

## Western 及 IP 细胞裂解液

(本试剂仅供科研使用)

4℃储存, 有效期 12 个月。

### 一、产品包装

| 产品编号   | 产品名称               | 包装规格  |
|--------|--------------------|-------|
| YWB016 | Western 及 IP 细胞裂解液 | 100mL |

### 二、产品简介

Western 及 IP 细胞裂解液要由 Tris-HCl、NaCl、低浓度 Triton X-100, 低浓度 sodium pyrophosphate 等组成, 不含蛋白酶、磷酸酶抑制剂, 并维持原有的蛋白间相互作用。

Western 及 IP 细胞裂解液采用一种非变性裂解方法来裂解细胞, 并获得总蛋白的裂解液, 所获得的蛋白质可以用于 PAGE 电泳, Western, 免疫沉淀(IP)和免疫共沉淀(Co-IP)等。

用 Western 及 IP 细胞裂解液得到的蛋白, 可以用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度, 但由于含有较高浓度的 Triton X-100 等干扰物质, 不宜用 Bradford 法测定蛋白浓度。

### 三、操作步骤

#### A. 贴壁细胞

- 1、取 Western 及 IP 细胞裂解液室温混匀, 根据不同需要添加所需要蛋白酶抑制剂或磷酸酶抑制剂。
- 2、去除贴壁细胞的培养液, 用 PBS 或 NS 或无血清培养基清洗细胞, 低速离心去上清, 留取沉淀。
- 3、按照 6 孔板每孔加入 100-200 $\mu$ L 本裂解液的比例, 加入 Western 及 IP 细胞裂解液。使用移液器轻轻吹打小包脱落后, 再轻轻吹吸, 使裂解液与细胞充分混匀 (1-5s 内, 细胞即可充分被裂解)。
- 4、10000-12000 离心 3-5min (建议使用冷冻离心机 4℃ 离心), 吸取上清液。
- 5、进行后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀、免疫共沉淀操作。

#### B. 悬浮细胞

- 1、取 Western 及 IP 细胞裂解液室温混匀, 根据不同需要添加所需要蛋白酶抑制剂或磷酸酶抑制剂。
- 2、低速离心, 弃上清, 收取沉淀。
- 3、用手指轻弹细胞, 使其松散。按照 6 孔板每孔加入 100-200 $\mu$ L 本裂解液的比例, 加入 Western 及 IP 细胞裂解液 (通常 100 $\mu$ L 裂解液足够, 如细胞数量非常高, 可以用量到 150-200 $\mu$ L), 用手指轻弹以充分裂解细胞 (直至没有明显的 细胞沉淀)。
- 4、10000-12000 离心 3-5min (建议使用冷冻离心机 4℃ 离心), 吸取上清液。
- 5、进行后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀、免疫共沉淀操作。

#### C. 组织样本

- 1、取 Western 及 IP 细胞裂解液室温混匀, 根据不同需要添加所需要蛋白酶抑制剂或磷酸酶抑制剂。
- 2、把组织剪成尽可能小的碎片, 在液氮或超低温冰箱中冷冻 30min 以上, 迅速用液氮研磨 (1-2min 完成研磨, 以减少蛋白的降解)。

- 3、按照每 20mg 组织加入 100-200 $\mu$ L 本裂解液的比例, 加入 Western 及 IP 细胞裂解液, 冰上或 4 $^{\circ}$ C 裂解 30-60min。
- 4、(可选) 如无液氮, 可以按照每 20mg 组织加入 100-200 $\mu$ L 本裂解液的比例, 加入 Western 及 IP 细胞裂解液, 用玻璃匀浆器或组织研磨器匀浆, 直至充分裂解 (1-2min 完成研磨, 以减少蛋白的降解)。
- 5、10000-12000 离心 3-5min (建议使用冷冻离心机 4 $^{\circ}$ C 离心), 吸取上清液。
- 6、进行后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀、免疫共沉淀操作。

#### 四、注意事项

- 1、去除贴壁细胞的培养液时, 如果血清中的蛋白没有干扰, 可以不用清洗。
- 2、贴壁细胞如过于牢固, 可使用细胞刮刀轻轻刮下来, 如蛋白后续实验进行 IP 或 Co-IP, 不建议使用胰酶消化细胞。
- 3、如果裂解不充分, 可以适当增加裂解液的用量, 如果需要高浓度的蛋白, 可以适当减少裂解液的用量。
- 4、如果细胞数量较多, 必需分装成 50-100 万细胞/离心管, 然后再裂解 (大团的细胞难以裂解充分, 而少量的细胞由于裂解液容易和细胞充分接触, 相对比较容易充分裂解)。

#### 五、相关试剂

| 产品编号   | 产品名称                           |
|--------|--------------------------------|
| YWB008 | 通用型抗体稀释液                       |
| YWB009 | 抗体洗脱液/ Stripping Buffer        |
| YWB011 | 低背景无蛋白快速封闭液                    |
| YWB001 | RIPA 组织细胞高效裂解液                 |
| YWB002 | BCA 蛋白定量试剂盒                    |
| YWB003 | ECL 超敏发光液                      |
| YWB004 | 三色高分子彩色预染蛋白 Marker(10-250kD)   |
| YWB006 | 超高分子量彩色预染蛋白 Marker (25-300kDa) |
| YWB007 | 彩色预染蛋白分子量标准 Marker (10-180kDa) |
| YWB012 | 超高分子量彩色预染蛋白 Marker (25-400kDa) |