版本:B10 修改日期:2024.12.20

Western 及 IP 细胞裂解液

产品简介:

多种成分均可以从细胞中提取总蛋白，如 Triton、SDS、NP-40 等，Western 及 IP 细胞裂解液是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(Immunol Precipitation,IP)和免疫共沉淀(co-IP)等，主要由 Tris-HCl、NaCl、低浓度 Triton X-100， 低浓度 sodium pyrophosphate 等组成，并含有多种蛋白酶抑制剂成分，可以有效抑制蛋白的降解，并维持原有的蛋白间相互作用。

用 Leagene 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，由于含有较高浓度的 Triton X-100 等干扰物质，不宜用 Bradford 法测定由 Western 及 IP 细胞裂解液获得样本的蛋白浓度。该试剂仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

编号 / 名称	PS0009	Storage
Western 及 IP 细胞裂解液	100ml	4℃
PMSF(100mM)	1.5ml	-20℃
使用说明书	1 份	

操作步骤(仅供参考):

配制含有 PMSF 的 Cell lysis buffer for Western and IP：取 Cell lysis buffer for Western and IP 置于室温平衡，加入 PMSF，使其终浓度为 1mM，临用前配制，不可长期保存。

(一)贴壁培养细胞

1、 去除贴壁细胞的培养液，用 PBS、NS 或无血清培养液清洗 1 次，低速离心，弃上清，留取沉淀。

2、 按照 6 孔板每孔加入 100～200μl 含有 PMSF 的裂解液的比例，加入 Western 及 IP 细胞裂解液；移液器轻轻吹打，使裂解液和细胞充分接触，通常裂解液作用于细胞 1～5s 内，细胞就会被裂解。通常 6 孔板每孔细胞加入 100μl 裂解液已经足够，但如果细胞密度非常高可以适当加大裂解液的用量到 150～200μl，再用手指轻弹以充分裂解细胞。充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。

3、 10000～12000g，离心 5～10min(如果用冷冻离心机 4℃离心效果更佳)，取上清。

www.leagene.com

4、进行后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

(二)悬浮培养细胞

1、低速离心悬浮细胞，弃上清，收集沉淀。用手指轻弹细胞，使其松散。

2、下同贴壁细胞 2～4 操作步骤。

(三)组织样本

1、把组织剪切成细小的碎片，越小越好。

2、取在液氮或超低温冰箱中冷冻 30min 以上的组织，迅速用液氮研磨，研磨过程尽量控制在 1～2min 之内，以减少蛋白的降解。

3、按照每 20mg 组织加入 150～250μl 裂解液的比例，加入含有 PMSF 的裂解液，冰上或 4℃裂解 30～60min。亦可以采用玻璃匀浆器或组织研磨器匀浆，直至充分裂解，过程尽量控制在 2～5min 之内，以减少蛋白的降解。

4、下同贴壁细胞 3～4 操作步骤。

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、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样品，可以适当减少裂解液的用量。

3、如果细胞量较多，必需分装成 50～100 万细胞/离心管，然后再裂解，大团的细胞较难裂解充分，而少量的细胞由于裂解液容易和细胞充分接触，相对比较容易裂解充分。

4、如果组织样品本身非常细小，可以适当剪切后直接加入裂解液裂解，通过强烈 Vortex 使样品裂解充分，然后同样离心取上清，用于后续实验。直接裂解的优点是比较方便，不必使用匀浆器，缺点是不如使用匀浆器那样裂解得比较充分。

5、Cell lysis buffer for Western and IP 低温存放可能产生絮状沉淀，可用水浴溶解，但应尽量缩短溶解时间，避免裂解液中的有效成分失效。

6、细胞裂解的操作步骤，应置于冰上或 4℃进行。

7、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期：12 个月有效。低温运输，按要求保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
PE0080	Tris-HCl 缓冲液(1mol/L,pH6.8)
DG0005	糖原 PAS 染色液
PW0040	Western blot 一抗稀释液
TO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)

www.leagene.com

文献引用：

1、engjiao Liu,Yaxin Jia,Liwei Zhao,et al.Escin ameliorates CUMS-induced depressive-like behavior via BDNF/TrkB/CREB and TLR4/MyD88/NF-κB signaling pathways in rats.EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACOLOGY.October 2024.10.1016/j.ejphar.2024.177063.(IF4.2)

2、Haibin Li,Chunyan Zhang,et al.Lumican silencing ameliorates β-glycerophosphate-mediated vascular smooth muscle cell calcification by attenuating the inhibition of APOB on KIF2C activity.Open Medicine.September 2023.10.1515/med-2023-0790.(IF 2.1)

注：更多使用本产品的文献请参考产品网页

www.leagene.com