

# Western及IP细胞裂解液

100ml WLA014a

仅用于科学研究,不能用于诊断

Wanleibio



## 产品信息

### 产品名称

Western及IP细胞裂解液

### 产品概述

Western及IP细胞裂解液 (Cell lysis buffer for Western and IP) 是一种在非变性条件下裂解细胞的裂解液, 主要用于从动物组织和哺乳动物细胞中提取可溶性蛋白, 可用于裂解贴壁细胞和悬浮细胞。Western及IP细胞裂解液提取的蛋白可应用于PAGE、Western Blot、IP、co-IP等。

Western及IP细胞裂解液的主要成分为20mM Tris (pH 7.5), 150mM NaCl, 1% Triton X-100, 以及sodium pyrophosphate,  $\beta$ -glycerophosphate,  $\text{Na}_3\text{VO}_4$ , EDTA, leupeptin等多种抑制剂, 可以有效抑制蛋白降解。

### 包装信息

产品货号	产品名称	包装
WLA014a	Western及IP细胞裂解液	100ml

### 保存条件

-20°C保存, 本试剂盒自订购之日起一年内有效。

### 注意事项

- 1.使用Western及IP细胞裂解液得到的蛋白样品, 可采用BCA法进行蛋白定量, 此产品可单独向本公司订购如: WLA004 BCA蛋白定量试剂盒。由于本品含有较高浓度的Triton X-100等干扰物质, 故不能使用Bradford法进行蛋白定量。
- 2.建议在使用Western及IP细胞裂解液前, 向溶液中加入PMSF或磷酸酶抑制剂, 以防止蛋白降解, 或保持蛋白的磷酸化状态。

### 操作流程

#### I 细胞样品

##### 1.贴壁细胞蛋白抽提

- (1) 小心倾去贴壁细胞的培养液。
- (2) 可选步骤: 若培养基中含有酚红或蛋白则可能干扰实验结果, 请先用预冷的PBS漂洗细胞。
- (3) 加入适量Western及IP细胞裂解液 (使用前2-3min内加入PMSF), 在冰上用枪头吹打贴壁细胞。试剂使用量请参考表1。

表1.贴壁细胞 Western及IP细胞裂解液使用量推荐表

细胞培养类型	Western及IP细胞裂解液使用量
100mm	500-1000 $\mu$ l
60mm	250-500 $\mu$ l
6孔培养板	200-400 $\mu$ l/孔
24孔培养板	100-200 $\mu$ l/孔
96孔培养板	50-100 $\mu$ l/孔

# Western及IP细胞裂解液

100ml WLA014a

仅用于科学研究,不能用于诊断

## 产品信息



(4) 将Western及IP细胞裂解液转移至新的离心管中, 冰上孵育20min, 使细胞充分裂解。

(5) 14000×g, 离心10min, 转移上清液至新管中, 进行下一步分析。

### 2. 悬浮细胞蛋白提取

(1) 悬浮细胞2500×g, 离心5min, 弃去上清。

(2) 可选步骤: 若培养基中含有酚红或蛋白可能干扰实验结果的物质, 请使用预冷的PBS漂洗细胞。漂洗后的细胞悬浮液2500×g, 离心5min, 弃去上清。

(3) 加入适量Western及IP细胞裂解液 (使用前2-3min内加入PMSF), 每 $5 \times 10^6$ 细胞加入约200-500 $\mu$ l Western及IP细胞裂解液, 吹打均匀。

(4) 冰上放置20min, 使细胞充分裂解。

(5) 14000×g, 离心10min, 转移上清液至新管中, 进行下一步分析。

### II 组织样品

1. 取适当的Western及IP细胞裂解液, 在使用前2-3min内加入PMSF。

2. 称量实验组织的重量, 按照1: 10 (g/ml) 的比例加入Western及IP细胞裂解液后将组织剪成细小碎片, 用电动匀浆器匀浆处理。若需要浓缩的蛋白提取物, 可适当减少组织蛋白抽提试剂使用量。

3. 冰上孵育20min, 使细胞充分裂解。