

Western 及 IP 细胞裂解液

货号：NGP0022S 100ml

储存事项：2-8°C保存，有效期 12 个月。

产品介绍：

Western 及 IP 细胞裂解液内含非离子型去垢剂，能裂解细胞并在非变性条件下释放胞浆蛋白和可溶性膜蛋白、核蛋白。非变性条件下的裂解蛋白产物最大限度地保留了蛋白的特性和功能，如抗原-抗体结合或酶学活性，因此适宜于进行免疫共沉淀。另外，有些抗体对非变性蛋白具有更高的结合能力或只能识别非变性蛋白的抗原位点，这种情况应该使用非变性裂解。

注意事项：

1.为取得最佳的使用效果，尽量避免过多的反复冻融。可以适当分装后使用。裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4°C 进行。裂解时间可根据实验要求进行优化处理。

2.Western 及 IP 细胞裂解液裂解得到的蛋白样品，可以用 BCA 蛋白浓度测定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，不能用 Bradford 法测定由本裂解液裂解得到样品的蛋白浓度。

操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）

根据使用量，取每 1 ml 裂解液加入 10 μ l PMSF，使 PMSF 的最终浓度为 1mM。混匀备用（PMSF 现用现加）。

1、样品前处理：

a)对于贴壁细胞：去除培养液，用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗一遍。按照 6 孔板每孔加入 150-250 μ L 裂解液的比例加入裂解液。用枪吹打数下，使裂解液和细胞充分接触，冰上放置裂解 5-10 分钟。

b)对于悬浮细胞：离心收集细胞，用手指把细胞用力弹散。按照 6 孔板每孔细胞加入 150-250 微升裂解液的比例加入裂解液，冰上放置裂解 5-10 分钟。期间可以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。如果细胞量较多，必需分装成 50-100 万细胞/管，然后再裂解。

c)对于组织样品：把组织剪切成细小的碎片。按照每 20 毫克组织加入 150-250 微升裂解液的比例加入裂解液。（如果裂解不充分可以适当添加更多的裂解液，如果需要高浓度的蛋白样品，可以适当减少裂解液的用量）。用玻璃匀浆器匀浆，直至充分裂解。

2、样品后处理：

充分裂解后，将裂解后的样品 10000-14000 g 离心 3-5 分钟，取上清，即可进行后续的 PAGE、Western 和免疫沉淀、免疫共沉淀等操作。