

Product Manual

产品说明书

产品货号

PR01202

产品介绍

Western Blot/IP 细胞裂解液，是一种在非变性条件下裂解细胞或组织样品的裂解液，主要成分为 25mM Tris-HCl (pH7.4), 150mM NaCl, 1% NP-40 和 5% Glycerol 等，可有效抑制蛋白的降解，并维持原有的蛋白间相互作用。

本裂解液裂解得到的蛋白样品，可以用于常规的 PAGE、Western、免疫沉淀 (Immunol Precipitation, IP)、免疫共沉淀 (Co-IP)，以及许多兼容 1% NP-40 的酶活性或者生物小分子的检测。

Medlife 提供的另外一款 高强度 RIPA 裂解液 (无抑制剂) (PR01201)，其有效裂解成分为 1% Triton X-100、1% Deoxycholic Acid、0.1% SDS，裂解蛋白能力更强。若 Western Blot/IP 细胞裂解液效果不是非常理想，可以尝试使用裂解强度更高的 高强度 RIPA 裂解液 (无抑制剂) (PR01201)。

应用范围

细胞裂解、PAGE、Western-blot、IP、Co-IP

储运条件

4 °C 保存，有效期见外包装；冰袋运输

产品特点

性能温和：非变性条件裂解细胞；

适用范围广：适用于 WB、IP 和 Co-IP 实验。

注意事项

- 1.裂解时需冰上或 4 °C 进行。
- 2.本产品仅限于科研，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品和药品，不得存放于普通住宅内。
- 3.为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

自备材料

1.耗材

(1) 离心管 (2) 冰

2.试剂

(1) 蛋白酶抑制剂 (2) 磷酸酶抑制剂 (可选) (3) 1 × PBS

操作步骤

1.取适当量的 Western Blot/IP 细胞裂解液，在使用前数分钟根据需要加入蛋白酶或磷酸酶抑制剂。

注：蛋白酶抑制剂或磷酸酶抑制剂需另行购买，本公司可提供蛋白酶抑制剂混合液 (EDTA-Free, 100×in DMSO) (PR01203)。

2.样本裂解 (需在冰上操作)

(1) 对于贴壁细胞：

- 1) 去除培养基，用 PBS (生理盐水或无血清培养液) 清洗一遍。

2) 尽量去除 PBS, 按照 6 孔板每孔细胞量加入 150~250 μ L 裂解液的比例加入裂解液。用移液器吹打数下, 使裂解液和细胞充分接触。通常动物细胞 1~2 秒后就会被裂解。

(2) 对于悬浮细胞:

1) 离心收集细胞。

2) 按照 6 孔板每孔细胞量加入 150~250 μ L 裂解液的比例加入裂解液, 轻弹管底以充分裂解细胞。充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。如果细胞量较多, 必须分装成 50~100 万细胞/管, 然后再裂解。

(3) 对于组织样品:

1) 把组织剪切成细小的碎片。

2) 按照每 20 mg 组织加入 150~250 μ L 裂解液的比例加入裂解液。

注: 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) 用玻璃匀浆器匀浆, 直至充分裂解。

注: 若组织样品非常细小, 可以适当剪切后直接加入裂解液裂解, 通过强烈涡旋使其裂解充分。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。

3.充分裂解后, 10000~14000 g 离心 3~5 分钟, 取上清, 即可进行后续的 PAGE、Western 和免疫沉淀等操作。得到的蛋白样品可分装保存于 -20 $^{\circ}$ C, 长期保存于 -80 $^{\circ}$ C。