



## Western 及 IP 细胞裂解液

### WIP

产品货号: C-0013

产品规格: 30ml, 60ml, 100ml

保存条件: -20°C 保存, 一年有效。

#### 产品描述:

WIP 组织细胞裂解液(Tissue and Cell lysis solution for Western Blot and Immunoprecipitation), 是一种在非变性条件下裂解细胞的裂解液。本产品裂解细胞获得的裂解产物, 可用于 PAGE, 蛋白印迹 (Western Blot), 免疫沉淀(immunoprecipitation, IP), 免疫共沉淀(co-IP) 和蛋白与多肽的分离纯化。

WIP 裂解液的主要成分为 Tris(pH 7.5, 20mM), 150mM NaCl, 去垢剂 Triton X-100 以及多种蛋白酶抑制剂, 无需自备 PMSF 等蛋白酶抑制剂。WIP 不仅可以用于细胞培养物的裂解, 也可直接用于大多数动物组织的裂解。在有效地裂解组织和细胞的同时, 可强烈地抑制蛋白、多肽的降解, 并保持原有的分子结构和蛋白间相互作用。

用 WIP 裂解得到的组织细胞蛋白样品, 可以用博奥森生产的 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 试剂盒测定由本裂解液裂解得到样品的蛋白浓度。

#### 产品组成:

名称	规格		
WIP 组织细胞裂解液	30ml	60ml	100ml
PMSF(100×)	0.3ml	0.6ml	1ml

#### 使用说明:

##### 1. 培养细胞

- (1) 取出 WIP 裂解液, 待融化后, 颠倒混匀数次, 适量分装冻存。在使用前取出, 按比例加入 PMSF (使其最终浓度为 1mM), 混匀, 立即使用。
- (2) 贴壁细胞, 去除培养液, 用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗 2-3 遍 (如血清中的蛋白没有干扰, 也可以不洗)。按 6 孔板每孔加入 100-200 微升的比例加入 WIP。用枪吹打数下, 使 WIP 和细胞充分接触。通常 WIP 接触细胞数秒后细胞就会被裂解。
- (3) 悬浮细胞, 收集培养细胞, 离心去除培养液, 用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗 2-3 遍(如血清中的蛋白没有干扰, 也可以不洗), 用手指把细胞用力弹散, 按 6 孔板每孔细胞加入 100-200 微升的比例加入 WIP。如果细胞数量较大, 应按 50-100 万细胞/管分装或根据细胞数量按比例增加 WIP。用手指轻弹管底以促进 WIP 和细胞充分接触, 裂解完全时应无明显的细胞颗粒。
- (4) 裂解物经 10,000-14,000g 离心 3-5 分钟, 取上清, 即可进行后续的 PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。
- (5) 裂解液用量说明: 通常 6 孔板每孔细胞加入 100 微升裂解液已经足够, 但如果细胞密度非常高可以适当加大裂解液的用量到 150 微升或 200 微升。

##### 2. 组织样品

取 Ep 管, 分别称重标记, 把组织剪切成小块装入 Ep 管中, 称重。按每 20 毫克组织加 100-200 微

升的比例加入 WIP(如裂解不完全,可以适当增加 WIP 的用量;如需要的蛋白样品浓度较高,可以适当减少 WIP 的用量)。用手握式电动组织细胞匀浆器匀浆约 1 分钟或直至充分裂解。10,000-14,000g 离心 3-5 分钟,取上清,即可进行后续的 PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

如果组织样品本身非常细小,如淋巴细胞,可直接加入 WIP 裂解,通过振荡 (Vortex) 以使样品裂解完全。

**注意事项:**

1. 为获得最佳的实验效果,可适当分装使用,以尽量避免反复冻融。
2. PMSF 不稳定,应现用现加。
3. 裂解蛋白的所有步骤都需在冰上或 4℃进行。
4. 蛋白酶抑制剂均有较高的毒性,为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。一旦直接接触,请立即用流水冲洗,再向医疗保健结构咨询。