

IP 及 Western 细胞裂解液使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
ES-8142	Cell lysis buffer for Western and IP	100mL/500mL
	使用说明书	1 份

【保存条件】

4°C 保存，有效期 12 个月

【概述】

本产品是一种在非变性条件下裂解细胞或组织样品的专用缓冲液。其温和的去污剂配方能有效释放胞浆蛋白与胞核蛋白，同时最大限度地保留蛋白质的天然构象及蛋白质与蛋白质之间的相互作用。

适用范围：常规 SDS-PAGE、Western Blot、免疫沉淀 (IP)、免疫共沉淀 (Co-IP) 及 ELISA。

样本兼容：动植物细胞/组织；配合溶菌酶或破壁酶后可用于细菌和真菌。

【操作方法】

1. 准备工作：

温度控制：所有裂解步骤均需在冰上或 4°C 进行。

抑制剂添加：临用前，根据实验需求加入蛋白酶抑制剂（如 ES-8135）或磷酸酶抑制剂（如 ES-8136）。

2. 贴壁细胞裂解

- ① **清洗：**弃去培养基，用冰冷的 PBS 洗涤细胞一次，尽量吸干残留液体。
- ② **加液：**按照 6 孔板每孔加入 200-400 μ L 裂解液的比例加入（含抑制剂）。
- ③ **孵育：**置于冰上孵育 5-10 分钟。期间可轻晃培养板或用移液器吹打，使裂解液充分接触细胞。
- ④ **离心：**使用刮棒收集或直接吸取裂解液至离心管中。在 4°C 下以 13,000 \times g 离心 5-10 分钟。
- ⑤ **收集：**转移上清液至新管，推荐使用 BCA 法 (EK-5001) 测定蛋白浓度。

3. 悬浮细胞裂解

- ① **收集：**1,000 \times g 离心 5 分钟收集细胞，弃上清。
- ② **清洗：**用冰冷 PBS 洗涤一次，再次离心沉淀。
- ③ **加液：**每 1×10^6 - 5×10^6 细胞加入约 200-500 μ L 裂解液；或按细胞湿重体积的 10:1 (v/w) 比例加

入。

④ **孵育与离心**：冰上孵育 5-10 分钟（期间弹击管底混匀），随后 4°C 下以 13,000×g 离心 5-10 分钟，取上清蛋白，推荐使用 BCA 法 (EK-5001) 测定蛋白浓度。

4. 组织样品裂解

① **剪切与加液**：将组织剪成碎片。按每 20 mg 组织加入 200-400μL 裂解液（含抑制剂）的比例混合。

② **破碎与孵育**：使用匀浆器或研磨仪将组织彻底打碎。冰上静置裂解 15-20 分钟，期间翻转混匀数次。

③ **离心取样**：4°C 下以 13,000×g 离心 5-10 分钟，取清亮上清即可。

注：组织样本含有较多结缔组织和脂肪，离心时间可比细胞样本适当延长。若表面有厚脂肪层，请用移液枪穿过脂肪层吸取下方上清，转移至新离心管中。

【附表：不同培养器皿的裂解液参考用量】

为了达到最佳的裂解效果（通常蛋白浓度在 2-4 mg/mL），细胞长满（100%汇合度）时建议参考下表进行加液：

培养器皿类型	培养面积 (cm ²)	细胞数量(个)	裂解液建议用量 (μL)
6 孔板 (每孔)	9.5	1×10 ⁶	200-400
3.5cm 培养皿	8	1×10 ⁶	200-400
6cm 培养皿	21	2.5×10 ⁶	500
10cm 培养皿	55	7×10 ⁶	1000
T25 培养瓶	25	3×10 ⁶	500-600

【注意事项】

- 蛋白降解防治**：细胞裂解后会释放大量蛋白酶，请务必保持低温操作并足量添加抑制剂。
- 基因组污染**：若裂解物粘度极高，可适当延长离心时间或进行短暂的超声破碎处理（Ice bath, 20% power, 3-5 seconds）。
- IP 实验建议**：针对弱相互作用的 Co-IP，建议使用本产品进行温和裂解。如需增强裂解强度，可适当增加氯化钠 (NaCl) 浓度。

4. **安全性:** 本品含有去污剂, 可能对皮肤有轻微刺激。操作时请穿实验服并戴一次性手套。