

NP-40 裂解液说明书

AP0421

保存条件

-20°C 保存，18 个月有效。

产品信息

产品名称	产品货号	规格
NP-40 裂解液	AP0421	100mL

产品简介

NP-40 裂解液(NP-40 Lysis Buffer)是一种比较温和的细胞组织裂解液。NP-40 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(immunoprecipitation, IP)、免疫共沉淀(co-IP)和 ELISA 等。

本产品可以用于动物、植物的细胞或组织样品，也可以用于真菌或细菌样品。

NP-40 裂解液的主要成分为 50mM Tris(pH7.4)，150mM NaCl，1% NP-40 以及 sodium pyrophosphate, β -glycerophosphate, sodium orthovanadate, sodium fluoride, EDTA, leupeptin 等多种抑制剂。可以有效抑制蛋白降解。

由于含有较高浓度的去垢剂，不能用 Bradford 法测定由本裂解液裂解得到样品的蛋白浓度。

使用方法

1. 对于培养细胞样品：

a. 融解 NP-40 裂解液，混匀。取适当量的裂解液，在使用前数分钟内加入 PMSF，使 PMSF 的最终浓度为 1mM，或者根据实验需要加入适当的蛋白酶抑制剂混合物。

b. 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(如果血清中的蛋白没有干扰，可以不洗)。按照 6 孔板每孔加入 150-250 微升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。通常裂解液接触动物细胞 1-2 秒后，细胞就会被裂解。植物细胞宜在冰上裂解 2-10min。

对于悬浮细胞：离心收集细胞，轻轻 vortex 或者弹击管底以把细胞尽量分散开。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。再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。

对于细菌或酵母：对于 1ml 菌液或酵母液，离心去上清，如果有必要可以使用 PBS 洗涤一次，充分去除液体后，轻轻 vortex 或者弹击管底以把细菌或酵母尽量弹散。加入 100-200 微升裂解液，轻轻 vortex 或者弹击管底以混匀，冰上裂解 2-10min。如果希望获得更好的裂解效果，细菌和酵母可以分别使用溶菌酶和破壁酶(Lyticase)消化，然后再使用本裂解液

进行裂解。

裂解液用量说明: 通常 6 孔板每孔细胞或者 1ml 的菌液或酵母液中的细菌和酵母量加入 150 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 200 微升或 250 微升。每 100 万动物细胞用 100 微升本产品裂解后获得的上清, 其蛋白浓度约为 2-4mg/ml, 不同细胞有所不同。

c. 充分裂解后, 10000-14000g 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。

2. 对于组织样品:

a. 把组织剪切成细小的碎片。

b. 融解 NP-40 裂解液, 混匀。取适当量的裂解液, 在使用前数分钟内加入 PMSF, 使 PMSF 的最终浓度为 1mM, 或者根据实验需要加入适当的蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物。

c. 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。)

d. 用玻璃匀浆器匀浆, 直至充分裂解。也可以把组织样品冷冻后液氮研磨, 研磨充分后加入裂解液进行裂解。

e. 充分裂解后, 10000-14000g 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。每 20mg 冻存的小鼠肝脏组织用 200 微升本裂解液裂解后获得的上清, 其蛋白浓度约为 15-25mg/ml, 不同状态的不同组织有所不同。

f. 如果组织样品本身非常细小, 可以适当剪切后直接加入裂解液裂解, 通过强烈 vortex 使样品裂解充分。然后同样离心取上清, 用于后续实验。直接裂解的优点是比较方便, 不必使用匀浆器或研磨设备, 缺点是不如匀浆或研磨那样裂解得比较充分。

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。

2. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4°C 进行。

3. 关于裂解液的选择, 需要通过一些预实验来摸索最佳的适合您实验条件的裂解液。

4. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。

5. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。