

## 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(immunol precipitation, 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 EDTA 等。

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液或磷酸酶抑制剂混合液。

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，必须分装成 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抑制剂混合液或磷酸酶抑制剂混合液。

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。