

NP-40 裂解液

2020.04.15R

产品简介:

NP-40 裂解液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 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀(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 Tris(pH7.4), NaCl, NP-40, 焦磷酸钠, β -甘油磷酸, 原钒酸钠, 氟化钠, EDTA, leupeptin 等多种抑制剂, 可以有效抑制蛋白降解。

用 NP-40 裂解液裂解得到的蛋白样品, 可以用 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。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
PMK0210	NP-40 裂解液	100ml/500ml
—	说明书	1 份

保存条件:

-20℃ 保存, 一年有效。

操作步骤:

(一) 贴壁培养细胞

- 1、取 NP-40 裂解液置于室温融解混匀, 加入 PMSF, 使 PMSF 终浓度为 1mM。
- 2、去除贴壁细胞的培养液, 用 PBS、生理盐水或无血清培养液清洗 1 次, 低速离心, 弃上清, 留取沉淀。
- 3、按照 6 孔板每孔加入 150~250 μ l 含有 PMSF 的 NP-40 裂解液, 移液器轻轻吹打, 使裂解液和细胞充分接触。置于冰上或 4℃ 裂解, 通常裂解液作用于细胞 1~3s 内, 细胞就会被裂解。
- 4、10000~12000g, 4℃ 离心 5~10min (如无低温离心机, 室温下离心亦可), 取上清。
- 5、后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

(二) 悬浮培养细胞

- 1、取 NP-40 裂解液置于室温融解混匀, 加入 PMSF, 使 PMSF 终浓度为 1mM。
- 2、低速离心悬浮细胞, 弃上清, 收集沉淀。
- 3、用手指轻弹细胞, 使其松散。按照 6 孔板每孔细胞加入 150~250 μ l 含 PMSF 的 NP-40 裂解液。如果细胞密度非常高可以适当加大裂解液的用量到 200~250 μ l。再用手轻弹以充分裂解细胞, 充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。
- 4、10000~12000g, 4℃ 离心 5~10min (如无低温离心机, 室温下离心亦可), 取上清。
- 5、进行后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

产品说明书

（三）组织样本

- 1、把组织剪切成细小的碎片，越小越好。
- 2、取 NP-40 裂解液置于室温融解混匀，加入 PMSF，使 PMSF 终浓度为 1mM。
- 3、取在液氮或超低温冰箱中冷冻 30min 以上的组织，迅速研磨，研磨过程尽量控制在 1~2min 之内，以减少蛋白的降解。
- 4、按照每 20mg 组织加入 150~250 μ l 裂解液的比例加入含有 PMSF 的裂解液，冰上或 4℃ 裂解 30~60min。
- 5、步骤 3、4 亦可以采用如下过程：按照每 20mg 组织加入 150~250 μ l 裂解液的比例加入含有 PMSF 的 NP-40 裂解液。用玻璃匀浆器或组织研磨器匀浆，直至充分裂解，该过程尽量控制在 1~2min 之内，以减少蛋白的降解。
- 6、10000~12000g，4℃ 离心 5~10min（如无低温离心机，室温下离心亦可），取上清。
- 7、进行后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

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。建议将其适当分装成合适的量，然后置于-20℃ 保存。
2. 细胞裂解蛋白提取的所有操作步骤都需在冰上或 4℃ 进行。
3. 建议在临用前数分钟内加入 PMSF，使 PMSF 的最终浓度为 1mM。PMSF 可以向我公司订购。
4. 在贴壁培养细胞的操作步骤中，去除贴壁细胞的培养液后，如果血清中的蛋白没有干扰，可以不用清洗。
5. 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。
6. 在培养细胞的裂解中，如果细胞量较多，必需分装成 50~100 万细胞/离心管，然后再裂解。大团的细胞较难裂解充分，而少量的细胞由于裂解液容易和细胞充分接触，相对比较容易裂解充分。
7. 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，缺点是不如使用匀浆器或研磨那样裂解得比较充分。
8. 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消化，然后再使用本裂解液进行裂解。
9. 复融后的试剂请及时使用，避免裂解液中有效成分失效。
10. 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。
11. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

更多产品详情了解，请关注公众号：

