

NP-40 裂解液

NP-40 Lysis Buffer

使用说明书

版本号: 231103

货号及规格:

目录编号	包装规格
P462-01	100mL

储存条件: 4°C 运输, -20°C 保存, 保质期 12 个月。加入蛋白酶抑制剂后建议适量分装 -20°C 冻存, 避免反复冻融。

产品简介:

NP-40 裂解液是一种比较温和的组织/细胞裂解液。通过本裂解液提取得到的蛋白样品, 可以用于 PAGE、Western Blot、免疫沉淀(Immunol Precipitation/IP)和免疫共沉淀(co-IP)等相关实验。NP-40 裂解液的主要成分为 1% NP-40, 50mM Tris-Hcl(pH7.4), 150mM NaCl, 以及 Sodium Orthovanadate, Sodium Fluoride, EDTA 等。温和的裂解方法有利于维持原有的蛋白结构, 并维持原有的蛋白间相互作用。

本产品需要和常规的蛋白酶抑制剂一起使用, 以达到更好的提取效果; 本产品含有磷酸酶抑制剂, 可用于提取磷酸化蛋白。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(货号: P301)测定蛋白浓度。由于含有较高浓度的去垢剂等干扰物质, 本裂解液裂解得到样品的蛋白浓度不能用 Bradford 法蛋白浓度测定试剂盒(货号: P302)测定。

使用方法(仅供参考):

1. 使裂解液充分融解, 混匀。取适量的裂解液, 在使用前数分钟内加入 PMSF, 使 PMSF 的最终浓度为 1mM, 根据具体实验需求可选择加入蛋白酶抑制剂。

裂解液用量说明: 通常 6 孔板每孔细胞加 150uL 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 200uL 或 250uL。

2. 根据样品的类型进行如下操作:

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(若血清中的蛋白没有干扰, 可不洗)。按照 6 孔板每孔加入 150-250uL 裂解液的比例加入裂

解液。用移液器吹打数下，使裂解液和细胞充分接触。通常裂解液接触细胞 1-2 秒后，细胞就会被裂解。

对于悬浮细胞 离心收集细胞，去除培养基，用手指把细胞用力弹散，按照 6 孔板每孔细胞加入 150-250uL 裂解液的比例加入裂解液。再用手指轻弹以充分裂解细胞。充分裂解后应无明显的细胞沉淀。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。

对于组织样品：把组织剪切成细小的碎片。按照每 20mg 组织加入 150-250uL 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用量；如果需要高浓度的蛋白样品，可以适当减少裂解液的用量)。使用玻璃匀浆器匀浆，直至充分裂解。

3. 样品充分裂解后，在 4℃ 10000-14000xg 离心 3-5 分钟，取上清，即可进行后续的 PAGE、Westernblot、免疫沉淀和免疫共沉淀等相关实验操作。

注意事项：

1. 需自备 PMSF。为取得最佳的使用效果，尽量避免过多的反复冻融，如用量较少，可以适当分装保存后使用。裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4℃ 进行。
2. 没有一种裂解液适合所有样本的裂解，可能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。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
4. 本制品仅供科研使用，严禁用于临床诊断和药物等用途。

=====

