

NP-40 裂解液使用说明书

货号: N8032

规格: 100mL/500mL

本产品配有一支 PMSF (1.5mL)。

保存: -20 °C 保存, 1 年。

产品说明:

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 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 Tris(pH7.4), NaCl, 1% NP-40, EDTA 以及磷酸酶抑制剂。此外, 本产品还赠送一支 PMSF, 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。

使用说明(仅供参考):

1. 对于培养细胞样品:

(1) 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。

(2) **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。

(3) 充分裂解后, 10000-14000 g 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：

(1) 把组织剪切成细小的碎片。

(2) 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 1 mM，或者根据实验需要加入适当的蛋白酶抑制剂混合物。

(3) 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。)

(4) 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。

(5) 充分裂解后，10000-14000 g 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。

(6) 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. 对于某些难溶解蛋白的 Western，如果发现 Western 及 IP 细胞裂解液 (P0013)效果不是非常理想，可以尝试使用裂解强度更高的裂解液例如 RIPA 裂解液或 SDS 裂解液。

4. 如果发现 IP 的时候背景很高，即非特异的蛋白也被 IP 下来，则需要选用裂解强度较高的裂解液，例如高效 RIPA 裂解液(R0010)。如果发现目的蛋白无法被 IP 下来，则说明裂解液的强度过强，可以使用较为温和的裂解液例如普通 RIPA 裂解液 (R0020) 或 NP-40 裂解液 (N8031/N8032)。

5. 本产品仅限于科学研究用，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。

6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

相关产品：

P1020 *1×PBS, PH7.2-7.4, 0.01M*

R0020 *RIPA 组织细胞裂解液*

R0030 *非变性组织细胞裂解液*

P1015 *4×蛋白上样缓冲液 (含 DTT)*

PC0020 *BCA 法蛋白浓度测定试剂盒*