

NP-40 Lysis Buffer

NP-40 裂解液

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。含有 sodium orthovanadate, sodium fluoride, EDTA, leupeptin 等多种抑制剂,可以有效抑制蛋白降解。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 等实验。

产品信息

货号	20121ES60
规格	100 mL

储存条件

-25~-15°C保存,有效期1年。尽量避免反复冻融,建议分装后使用。

使用说明

(一) 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 1 mM。
2. **贴壁细胞:** 去除培养液,用 PBS、生理盐水或无血清培养液清洗细胞一遍(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 μ L 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 2-10 分钟。

悬浮细胞: 离心收集细胞,用手指把细胞用力弹散。按照 6 孔板每孔细胞加入 150-250 μ L 裂解液的比例加入裂解液。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。如果细胞量较多,必需分装成 5×10^5 - 1×10^6 个细胞/管,然后再裂解。因为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。

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。

裂解液用量说明: 通常 6 孔板每孔细胞加入 150 μ L 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 μ L 或 250 μ L。每 100 万动物细胞用 100 μ L 本产品裂解后获得的上清,其蛋白浓度约为 2-4 mg/ml,不同细胞有所不同。

(二) 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。
3. 按照每 20 mg 组织加入 150-250 μ L 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。
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,缺点是不如使用匀浆器那样裂解得充分。

注意事项

1. 需自备 PMSF([Cat#20104ES](#)), 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4°C 进行。
2. 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其蛋白浓度 (Cat#[20201ES](#)/[20200ES](#))。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。
3. WB 实验系列产品选购可参考 [WB 实验系列产品-选购指南](#)。
4. 本产品仅作科研用途。
5. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并佩戴一次性手套操作。