

NP-40 裂解液 (含抑制剂)

【货号】 BI-WB007

【规格】 100mL

【保存】 -20℃, 12 个月

【产品简介】

NP-40 裂解液 (含抑制剂) 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 (含抑制剂) 的主要成分为 50mM Tris(pH7.4), 150mM 氯化钠, 1% NP-40 以及焦磷酸钠, β -甘油磷酸酯, 正钒酸钠, 氟化钠, EDTA, 亮肽素等多种抑制剂。可以有效抑制蛋白降解。

【使用方法】

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 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 s 后, 细胞就会被裂解。植物细胞宜在上裂解 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 μ L 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 μ L 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 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 2~4mg/ml，不同细胞有所不同。

(3) 充分裂解后，10000~14000 g 离心 3~5 min，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 min 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磷酸酶抑制剂混合物。

(3) 按照每 20mg 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。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 min，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、需自备 PMSF，裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4 $^{\circ}$ 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、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。
- 5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。