

NP-40 裂解液

产品简介

多种成分均可以从细胞中提取总蛋白,如 Triton、SDS、NP-40等。NP-40裂解液(NP-40 Lysis Buffer)是采用一种温和的裂解方法获得总蛋白的裂解液,所获得的蛋白质可以用于 PAGE 电泳、Western、免疫沉淀(Immunol Precipitation, IP)和免疫共沉淀(co-IP)等,并含有多种蛋白酶抑制剂成分,可有效抑制蛋白的降解,并维持原有的蛋白间相互作用。

NP-40 Lysis Buffer 主要由 Tris-HCl、NaCl、NP-40 以及 sodium pyrophosphate、 β -glycerophosphate、sodium fluoride、EDTA 等多种蛋白酶抑制剂组成,用 NP-40 Lysis Buffer 得到的蛋白,可以用 BCA 蛋白定量试剂盒和 Bradford 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。该试剂仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成

名称	编号	ADS0005S0	Storage
	NP-40 Lysis Buffer		100ml
PMSF(100mM)		1.5ml	-20°C
使用说明书		1 份	

操作步骤(仅供参考)

配制含有 PMSF 的 NP-40 Lysis Buffer: 取 NP-40 Lysis Buffer 置于室温平衡,加入 PMSF,使其终浓度为 1mM,临用前配制,不可长期保存。

(一)贴壁培养细胞

- 1、去除贴壁细胞的培养液,用 PBS、NS 或无血清培养液清洗 1 次,低速离心,弃上清,留取沉淀。
- 2、按照 6 孔板每孔加入 150 ~ 250 μ l 含有 PMSF 的裂解液的比例,加入 NP-40 Lysis Buffer,移液器轻轻吹打使裂解液和细胞充分接触,置于冰上或 4°C 裂解 15 ~ 30min,通常裂解液作用于细胞 1 ~ 3s 内,细胞就会被裂解,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 ~ 250 μ l,再用手轻轻弹以充分裂解细胞。充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。
- 3、10000 ~ 12000g, 4°C 离心 5 ~ 10min(如无低温离心机,室温下离心亦可),取上清。
- 4、进行后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

(二)悬浮培养细胞

- 1 低速离心悬浮细胞,弃上清,收集沉淀。用手指轻弹细胞,使其松散。

2、下同贴壁细胞 2~4 操作步骤。

(三)组织样本

- 1、把组织剪切成细小的碎片，越小越好。
- 2、取在液氮或超低温冰箱中冷冻 30min 以上的组织，迅速用液氮研磨，研磨过程尽量控制在 1~2min 之内，以减少蛋白的降解。
- 3、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 $^{\circ}$ C 裂解 30~60min。亦可以采用玻璃匀浆器或组织研磨器匀浆，直至充分裂解，过程尽量控制在 2~5min 之内，以减少蛋白的降解。
- 4、下同贴壁细胞 3~4 操作步骤。

注意事项

- 1、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。
- 2、如果裂解不充分可以适当增加裂解液的用量，如果需要高浓度的蛋白样品，可以适当减少裂解液的用量。
- 3、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。
- 4、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比较充分。
- 5、溶解 NP-40LysisBuffer 时应尽量缩短溶解时间，避免裂解液中的有效成分失效。
- 6、细胞裂解的操作步骤，应置于冰上或 4 $^{\circ}$ C 进行。
- 7、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：12 个月。低温运输，按要求保存。