

NP-40 裂解液

NP-40 Lysis Buffer

包装清单

| Cat No. | 组分 | 包装规格-100mL |
|----------|-----------|------------|
| MCK-0018 | NP-40 裂解液 | 100 mL |
| | 说明书 | 1 份 |

产品简介

默科生产的 NP-40 Lysis Buffer 是一种比较温和的细胞/组织裂解液，可用于动物、植物的细胞或组织及真菌、细菌样品，经裂解得到的蛋白样品可用于 PAGE、WB、IP、Co-IP 和 ELISA 等相关实验。温和的裂解方法有利于维持原有的蛋白结构及蛋白间的相互作用。

本产品的主要成分为 50 mM Tris (pH 7.4)、150 mM NaCl、1% NP-40 及 sodium pyrophosphate、 β -glycerophosphate、sodium orthovanadate、sodium fluoride、EDTA、leupeptin 等，可有效防止蛋白降解。

保存条件

-20°C 保存，有效期一年。

注意事项

1. 本产品尽量避免反复冻融，可适当分装后冻存使用。
2. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4°C 进行。
3. 该试剂盒中不包含蛋白酶/磷酸酶/蛋白激酶等相关抑制剂 Cocktail。
4. 裂解液用量说明：不同细胞的裂解液用量不同。通常 6 孔板每孔细胞或 1 mL 菌液/酵母液加入 150 μ L 裂解液即可。若细胞密度较高，可适当增加裂解液用量至 200-250 μ L。通常，每 1×10^6 个动物细胞用 100 μ L NP-40 Lysis Buffer 裂解后获得的上清，其蛋白浓度约为 2-4 mg/mL。
5. 关于裂解液的选择，建议通过预实验以摸索最佳裂解条件并裂解产品。如：对于一些特殊蛋白的 IP，若 WB 及 IP 中细胞裂解液裂解效果不太理想，可尝试使用 RIPA 裂解液(强、中或弱) 或 NP-40 Lysis Buffer。若 IP 的背景很高，即非特异的蛋白也被 IP 下来，或对于一些较难溶解蛋白的 WB，则需选用裂解强度较高的裂解液，如 RIPA 裂解液(强)。若目的蛋白未被 IP 下来，则可能是裂解强度过强，可使用较为温和的裂解液如默科的 NP-40 Lysis Buffer。
6. 本产品含有较高浓度的去垢剂，后续蛋白浓度测定不宜用 Bradford 法，建议使用 BCA 法进行测定。
7. 本产品仅限于专业人员的科学的研究用，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。
8. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明

使用前需将本产品在室温下充分融解并混匀，置于冰上备用。

取适当量的裂解液，如有需要，在使用前数分钟内加入蛋白酶/磷酸酶/蛋白激酶等相关抑制剂 Cocktail，具体操作可参考相关产品说明书。

1.对于细胞样品

贴壁细胞：

- (1) 去除培养液，用预冷的 PBS、生理盐水或无血清培养液清洗 1 次 (洗去血清中 IgG 干扰对 IP 和 Co-IP 实验是有益的，但对 WB 可能并非必要；若血清中的蛋白没有干扰，可不清洗)。
- (2) 按照 6 孔板每孔加入 150-250 μ L 裂解液的比例加入预冷的 NP-40 Lysis Buffer，用枪吹打数下，使裂解液和细胞充分接触。

注：通常裂解液接触动物细胞 1-2 s 后，细胞就会被裂解。植物细胞宜在冰上裂解 2-10 min。

- (3) 充分裂解后，10,000-14,000 g 离心 3-5 min，取上清，即可进行后续的 PAGE、WB 和 IP、Co-IP 等相关实验。

悬浮细胞：

- (1) 离心收集细胞，500 g，5 min，弃上清 (也可用预冷的 PBS、生理盐水或无血清培养液洗 1 遍后再进行离心，弃上清)。轻轻涡旋或轻弹管底使细胞尽量分散开。
- (2) 按照 6 孔板每孔加入 150-250 μ L 裂解液的比例加入预冷的 NP-40 Lysis Buffer，轻弹管底以充分裂解细胞，此时应无明显的细胞沉淀。

注：若细胞量较多，建议将样品分装后裂解 ($0.5-5 \times 10^6$ cells/管)。

- (3) 充分裂解后，10,000-14,000 g 离心 3-5 min，取上清，即可进行后续的 PAGE、WB 和 IP、Co-IP 等相关实验。

细菌或酵母细胞：

为达到更好的裂解效果，细菌和酵母可先分别使用溶菌酶和破壁酶进行消化，然后再使用 NP-40 Lysis Buffer 进行裂解。



默科南京

Hotline: 025-69867707

- (1) 取 1 mL 菌液或酵母液, 离心去上清 (也可用预冷的 PBS、生理盐水或无血清培养液洗 1 遍后再进行离心, 弃上清)。轻轻涡旋或轻弹管底以把细菌或酵母细胞尽量分散开。
- (2) 加入 100-200 μ L NP-40 Lysis Buffer, 轻弹管底以充分裂解细胞, 冰上裂解 2-10 min。
- (3) 充分裂解后, 10,000-14,000 g 离心 3-5 min, 取上清, 即可进行后续的 PAGE、WB 和 IP、Co-IP 等相关实验。

2. 对于组织样品

- (1) 将组织置于小皿中, 冰上操作, 剪切成细小的碎片。
注: 也可将组织样品冷冻后使用液氮充分研磨后再加入 NP-40 Lysis Buffer 进行裂解。
- (2) 按照每 20 mg 组织加入 150-250 μ L 裂解液的比例加入预冷的 NP-40 Lysis Buffer。若裂解不充分可适当增加裂解液的用量; 若需高浓度的蛋白样品, 可适当减少裂解液的用量。
- (3) 使用玻璃匀浆器匀浆
- (4) 充分裂解后, 10,000-14,000 g 离心 3-5 min, 取上清, 即可进行后续的 PAGE、WB 和 IP、Co-IP 等实验。
注: ①蛋白浓度因不同状态的不同组织会有所不同。本实验中, 每 20 mg 冻存的小鼠肝脏组织用 200 μ L NP-40 Lysis Buffer 裂解后获得的上清, 其蛋白浓度约为 15-25 mg/mL。
②若组织样品本身体积较小, 可适当剪切后直接加入 NP-40 Lysis Buffer 进行裂解, 经短暂涡旋后使样品充分裂解, 离心取上清用于后续实验。