

NP-40 裂解液

产品描述

NP-40裂解液(NP-40 Lysis Buffer)是一种比较温和的细胞组织裂解液,在非变性条件下裂解细胞或组织样品,从而制备蛋白样品。该产品的主要成分为50mM Tris(pH7.4), 150mM NaCl, 1% NP-40以及sodium pyrophosphate(焦磷酸钠), β -glycerophosphate(β -甘油磷酸酯), sodium orthovanadate(钒酸钠), sodium fluoride(氟化钠), EDTA, leupeptin(亮肽素)等多种抑制剂,可有效抑制蛋白的降解,维持原有蛋白间的相互作用。NP-40裂解液裂解得到的蛋白样品可以用于常规的PAGE、蛋白质免疫印迹(WB)、免疫沉淀(IP)、免疫共沉淀(co-IP)和酶联免疫吸附测定(ELISA)等。本产品可用于动物、植物的细胞或组织样品,也可以用于真菌或细菌样品。

试剂

1. 产品组分及储存条件

产品货号	产品名称	规格
K1127	NP-40 裂解液	100 mL
保存于-20°C, 一年有效。		

2. 自备材料及试剂

PMSF(A2587)

蛋白酶/磷酸酶抑制剂Cocktails(K1007-K1015, K1017)

操作流程

1. 细胞样品:

(1)融解NP-40裂解液,混匀。取适当量的裂解液,在使用前加入PMSF,使PMSF的最终浓度为1mM。可根据实验需要加入适当的上述蛋白酶磷酸酶抑制剂Cocktails。

(a)贴壁细胞:弃培养液,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(一般情况下裂解液接触动物细胞1-2s后,细胞就会被裂解)。植物细胞宜在冰上裂解2-10 min。

(b)悬浮细胞:离心收集细胞,轻轻涡旋或者弹击管底使细胞尽量分散。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。轻弹管底以便充分裂解细胞。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。大团的细胞较难裂解充分,而少量的细胞由于裂解液易和细胞充分接触,相

对比较容易裂解充分。

(c)细菌或酵母：取1 mL菌液或酵母液，离心去上清(或可使用PBS洗涤一次，充分去除液体)，轻轻涡旋或者弹击管底把细菌或酵母尽量分散。加入100-200 uL裂解液，轻轻涡旋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)。

(2)充分裂解后，10000-14000g离心3-5 min，取上清，即可进行后续PAGE、WB、IP、Co-IP和ELISA等操作。

2.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，在使用前加入PMSF，使PMSF的最终浓度为1mM。可根据实验需要加入适当的上述蛋白酶磷酸酶抑制剂Cocktails。

(3)按照每20 mg组织加入150-250 uL裂解液的比例加入裂解液。(若裂解不充分可适当增加裂解液用量，如果需要高浓度蛋白样品，可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。或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，10000-14000g离心3-5min，取上清，即可进行后续PAGE、WB、IP、Co-IP和ELISA等操作。

■ 注意事项

(1)裂解液用量说明：通常6孔板每孔细胞或者1 mL的菌液或酵母液中的细菌和酵母量加入150 uL裂解液已足够，若细胞密度非常高可以适当加大裂解液的用量到200 uL或250 uL。每100万动物细胞用100 uL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。

(2)每20mg冻存的小鼠肝脏组织用200 uL本裂解液裂解后获得的上清，其蛋白浓度约为15-25mg/mL，不同状态的不同组织有所不同。

(3)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，通过强烈涡旋使样品裂解充分。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比较充分。

(4)为取得最佳的使用效果，建议适当分装后使用尽量避免反复冻融。

(5)裂解样品的所有步骤都需在冰上或4°C进行。



APEx BIO Technology

www.apexbt.com

7505 Fannin street, Suite 410, Houston, TX 77054.

Tel: +1-832-696-8203 | Fax: +1-832-641-3177 | Email: info@apexbt.com

