

NP-40 裂解液

产品货号: T16007

产品规格: 50ml/100ml

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。

尚宝生物 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。

产品组成:

试剂名称	50ml	100ml	保存条件
NP-40 Lysis Buffer	50ml	100ml	-20℃
PMSF(100mM)	0.75ml	1.5ml	-20℃

操作步骤 (仅供参考):

(一)贴壁培养细胞

1. 取 NP-40 Lysis Buffer 置于室温溶解混匀, 加入 PMSF, 使 PMSF 终浓度为 1mM。
2. 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。
3. 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℃裂解 15~30min, 通常裂解液作用于细胞 1~3s 内, 细胞就会被裂解。
4. 10000~12000g, 4℃离心 5~10min(如无低温离心机, 室温下离心亦可), 取上清。
5. 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. 取 NP-40 Lysis Buffer 置于室温溶解混匀, 加入 PMSF, 使 PMSF 终浓度为 1mM。低速离心悬浮细胞, 弃上清, 收集沉淀。
2. 用手指轻弹细胞, 使其松散。按照 6 孔板每孔细胞加入 150~200 μ l 含有 PMSF 的裂解液的比例, 加入 NP-40 Lysis Buffer。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℃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。

(三)组织样本

1. 取 NP-40 Lysis Buffer 置于室温溶解混匀, 加入 PMSF, 使 PMSF 终浓度为 1mM。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℃裂解 30~60min。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

4. 步骤 3、4 亦可以采用如下过程：按照每 20mg 组织加入 150~250 μ l 裂解液的比例，加入含有 PMSF 的 NP-40 Lysis Buffer。用玻璃匀浆器或组织研磨器匀浆，直至充分裂解，该过程尽量控制在 1~2min 之内，以减少蛋白的降解。
5. 10000~12000g，4 $^{\circ}$ C 离心 5~15min(如无低温离心机，室温下离心亦可)，取上清。
6. 进行后续的 PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

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-40 Lysis Buffer 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 个月有效。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>