



## NP-40 Lysis Buffer

### NP-40裂解液

版本号: V220101

货号: E124  
 保存: 常温  
 运输: 常温

货号	规格
E124-01	100 ml

#### 【产品概述】

NP-40 裂解液是一种比较温和的细胞和组织裂解液, 提取的蛋白样品适用于 PAGE、Western blot、IP 和 Co-IP 等实验。其主要裂解成分为 1% NP-40, 温和的裂解方法有利于维持原有的蛋白结构, 适合于免疫共沉淀检测蛋白-蛋白间的相互作用。该产品裂解细胞或组织后, 没有非常粘滞的透明状 DNA 团块形成, 不必采用超声处理等就可以非常理想地用于后续操作。本品需要和常规的蛋白酶抑制剂联合使用, 以达到更好的提取效果; 本品已经含有磷酸酶抑制剂, 可用于提取磷酸化蛋白。用本产品提取得到的蛋白样品含有较高浓度的去垢剂, 因此不能用 Bradford 法测定样品的蛋白浓度, 但可以用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (Cat#E162) 测定蛋白浓度。

#### 【产品组分】

组分名称	规格
NP-40 Lysis Buffer	100 ml

#### 【主要成分】

50 mM TrisCl (pH7.4), 150 mM NaCl, 1% NP-40, Sodium Orthovanadate, Sodium Fluoride, EDTA 等。

#### 【保存条件】

室温保存, 保质期 12 个月。加入蛋白酶抑制剂后建议适量分装-20℃冻存, 避免反复冻融。

#### 【使用方法】

用户需自备的试剂: PMSF (Cat# B111)、Aprotinin、Leupeptin、Peptinin, 或商品化的蛋白酶抑制剂混合物 (Protease Inhibitor Cocktail)。

- 室温下使 NP-40 裂解液融解, 充分混匀。
- 取适量 NP-40 裂解液, 在使用前数分钟内加入终浓度为 1 mM 的 PMSF, 并可根据目标蛋白是否易被蛋白酶降解, 有选择地加入终浓度为 10 µg/ml 的 Aprotinin、Leupeptin 和/或 Peptinin。加入蛋白酶抑制剂后, 建议按需分装后冻存。  
 注: 如果样品不够新鲜, 或者提取的蛋白有被降解的情况, 可在此步骤中加入适量的蛋白酶抑制剂 (加入量参看您所使用蛋白酶抑制剂的产品说明)。若在第 1 步后加入了蛋白酶抑制剂, 则需要按需分装冻存, 避免反复冻融。
- 根据样品类型进行下述操作:
  - 贴壁培养细胞:
    - 去除培养液, 用 PBS、生理盐水或无血清培养液清洗一遍; 如果目标蛋白检测不受血清中蛋白的影响, 可以不清洗细胞;
    - 按照 6 孔板每孔加入 150-250 µl 裂解液的比例加入裂解液, 用移液器吹打数下, 使裂解液和细胞充分接触, 通常细胞可在 1-2 s 裂解。
  - 悬浮培养细胞:
    - 离心收集细胞, 吸除培养基;
    - 按照每  $1 \times 10^6$  个细胞加入 150-250 µl 裂解液的比例加入裂解液, 用移液器吹打数下, 使裂解液和细胞充分接触, 通常细胞可在 1-2 s 裂解。  
 注意: 加入的裂解液体积可根据细胞密度进行调整, 通常通常 6 孔板每孔细胞只需加入 150 µl 裂解液, 但如果细胞密度非常高, 可以适当加大裂解液的体积到 200-250 µl。
  - 组织样品:



- a. 将组织剪切成细小的碎片；
- b. 按照每 20 mg 组织加入 150-250  $\mu$ l 裂解液的比例加入裂解液；如果裂解不充分可以适当增加裂解液的用量；如果需要得到高浓度的蛋白样品，可适当减少裂解液的用量；
- c. 使用玻璃匀浆器匀浆，直至充分裂解。

*注：对非常细小的组织样品，可不必使用匀浆器；适当剪切后直接加入裂解液裂解，剧烈振荡混匀，使样品充分裂解。*

4. 待样品充分裂解后，4 $^{\circ}$ C下 10,000-14,000 x g 离心 5 min，吸取上清液，直接进行后续的 PAGE、Western blot 和免疫沉淀等操作。

#### 【附录】GenStar 各种细胞裂解液的性能比较

产 品 名 称		RIPA Lysis Buffer (Strong)	RIPA Lysis Buffer (Medium)	RIPA Lysis Buffer (Mild)	NP-40 Lysis Buffer	Cell Lysis Buffer for Western & IP
货 号		E121-01	E122-01	E123-01	E124-01	E125-01
裂 解 强 度		***	**	*	*	*
有 效 成 分	Triton X-100	*	-	-	-	*
	NP-40	-	*	*	*	-
	SDS	*	*	-	-	-
	蛋白酶抑制剂	-	-	-	-	-
	磷酸酯酶抑制剂	*	*	*	*	*
用 途	Western Blot	*	*	*	*	*
	免疫沉淀 (IP)	*	*	*	*	*
	免疫共沉淀 (Co-IP)	-	-	*	*	*
	膜蛋白	***	**	*	*	*
	胞浆蛋白	***	***	***	***	***
	核蛋白	***	**	**	**	**
	磷酸化蛋白	***	***	***	***	***
兼 容 性	Bradford法蛋白定量	-	-	-	-	-
	BCA法蛋白定量	*	*	*	*	*

#### 【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下，本公司对此产品所承担的责任，仅限于此产品的价值本身。