



NP40 裂解液 (带抑制剂)

产品描述

NP40 裂解液是一种比较温和的细胞组织裂解液, 主要成分为 50 mM Tris(pH7.4), 150 mM NaCl, 1% NP-40 以及 sodium pyrophosphate, β -glycerophosphate, sodium orthovanadate, sodium fluoride, EDTA, leupeptin 等多种抑制。对胞浆亚组分、胞核成分均有较强裂解作用, 有利于胞浆蛋白、核蛋白、胞浆磷酸化蛋白及细胞核转录因子的提取。适用于常规的 Western、IP 和 co-IP 等实验蛋白样品的制备。

订购信息

产品名称	货号	规格
NP40 裂解液 (带抑制剂)	AP01L054	100 mL

产品组分

组分	规格
A. NP40 裂解液	100 mL
B. 磷酸酶抑制剂	2*1 mL
C. PMSF	1 mL

运输与保存

蓝冰运输。裂解液 4°C 保存, 其余 -20°C 保存, 有效期 12 个月。

使用方法

培养细胞样品

- 融解 NP-40 裂解液, 混匀。取适当量的裂解液, 在使用前数分钟内加入 PMSF, 使 PMSF 的最终浓度为 1mM。
- 细胞裂解
 - 贴壁细胞:** 去除培养液, 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。通常裂解液接触细胞 1~2 秒后, 细胞就会被裂解。
 - 悬浮细胞:** 离心收集细胞, 按照 6 孔板每孔细胞加入 150~250 μ L 裂解液的比例加入裂解液, 混匀, 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。NP-40 裂解液的使用量可参照表 1。



表 1. NP-40 裂解液的使用量

样品种类	样品来源	收获细胞数	RIPA 用量	可制备样品数
细胞	6 孔板	2.5*10 ⁶	150-250 μ L	400-600
	60 mm 培养板	5.2*10 ⁶	300-500 μ L	200-300
	90 mm 培养板	12.2*10 ⁶	500-1000 μ L	100-200
	25 cm ² 培养瓶	5*10 ⁶	300-500 μ L	200-300
	75 cm ² 培养瓶	2*10 ⁷	1000-2000 μ L	50-100
组织	20 mg 组织块		150-250 μ L	400-600

3. 充分裂解后, 10000~14000rpm 离心 3~5 min, 取上清, 即可进行后续的 PAGE、Western 和免疫沉淀等操作。

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, 在使用前数分钟内加入 PMSF, 使 PMSF 的最终浓度为 1mM。
3. 按照每 20 mg 组织加入 150~250 μ L 裂解液的比例加入裂解液。如果裂解不充分可以适当添加更多的裂解液, 如果需要高浓度的蛋白样品, 可以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。
5. 充分裂解后, 10000~14000 rpm 离心 3~5 min, 取上清, 即可进行后续的 PAGE、Western 和免疫沉淀等操作。

注意事项

1. 本产品仅限于科学实验研究使用, 不得用于临床诊断、治疗等领域。
2. 用 NP-40 裂解液裂解得到的蛋白样品, 含有较高浓度的去垢剂, 不能用 Bradford 法测定蛋白浓度。
3. 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 μ L 或 250 μ L。
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。

相关产品推荐

EZ ECL pico 化学发光液 (超敏型) (货号: AP34L024)

BCA 蛋白定量试剂盒 (货号: AP12L025)