

## NP-40 裂解液

KP304 100毫升

### 试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	KP304
NP-40 裂解液	4°C	100 ml

本试剂盒在所需温度储存 12 个月不影响使用效果。

### 产品介绍:

NP-40 裂解液是一种比较温和的细胞组织裂解液,可以用于动物、植物的细胞或组织样品,也可以用于真菌或细菌样品。NP-40 裂解液裂解得到的蛋白样品可以用于常规的 PAGE、Western、免疫沉淀(immunol precipitation, IP)、免疫共沉淀(co-IP)和 ELISA 等。NP-40 裂解液的主要成分为 Tris(pH7.4), NaCl, 1% NP-40, EDTA 以及磷酸酶抑制剂。用 NP-40 裂解液裂解得到的蛋白样品,由于含有较高浓度的去垢剂,可以用 BCA 法测定蛋白浓度,不能用 Bradford 法测定由本裂解液裂解得到样品的蛋白浓度。

### 操作步骤:

1. 制备细胞裂解产物
  - a. 收集培养细胞,估计细胞离心后的体积(PCV,  $10^6$  cells=20 ul,  $10^7$  cells =100 ul PCV)。800g 4°C离心 5 分钟。
  - b. 每 50~100 ul PCV 加入 5 倍体积 NP-40 裂解液(250~500 ul),涡旋震荡 10 秒,冰浴放置 20 分钟。
  - c. 12000g 4°C离心 15 分钟,将上清转移到新的离心管中,即得细胞总蛋白产物。可用于后续的免疫沉淀或者 Western Blot 等实验。
2. 制备组织裂解产物:
  - a. 取 50-100mg 组织在冰上剪成碎片,用预冷的 PBS 洗涤 2 次离心后弃去 PBS。
  - b. 加入按照每 20 毫克组织加入 150-250 微升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。)

- c. 4°C用玻璃匀浆器匀浆 20-40 次，直到 95%的细胞被破碎。
- d. 涡旋震荡 10 秒，冰浴放置 20 分钟。
- e. 12000g 4°C离心 10 分钟，将上清转移到新的离心管中，即得组织总蛋白产物。

注意：在转移上清液时不要吸入底部的沉淀物；在做免疫沉淀或免疫共沉淀时最好在实验前进行蛋白的提取，以避免某些不稳定蛋白的降解；在该裂解缓冲液中未加入蛋白酶抑制剂，用户可自行选择进行添加。