

NP-40 裂解液

简介：

有很多种成分都可以从细胞中提取蛋白，例如 Triton、SDS、NP-40 等。NP-40 是 Nonidet P 40 的缩写，也叫乙基苯基聚乙二醇，是一种温和的非离子型去垢剂，1%浓度基本可以破坏掉细胞膜，而对核膜的破坏作用较弱，结合特定的缓冲液可以获得胞浆蛋白。与蛋白结合力强，用于防止物质分子疏水间相互作用，确保蛋白的充分溶解和结构稳定，尤其用于膜蛋白的非变性条件下的溶解。

伊势久 NP-40 裂解液主要由 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。经过 NP-40 裂解液裂解后得到的蛋白，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。该产品仅适用于科研实验，不可做他用。

组成：

产品名称	PC004-100ml	PC004-500ml	Storage
NP-40 裂解液	100ml	500ml	-20°C

保存条件：

-20°C，12 个月有效。

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，使 PMSF 终浓度为 1 mM。
- 2、去除贴壁细胞的培养液，低速离心，弃上清。
- 3、按照 6 孔板每孔加入 150 ~ 250 μ l 含 PMSF 的裂液的比例，加入 NP-40 Lysis。移液器轻轻吹打，使裂解液和细胞充分接触。置于冰上或 4°C 裂 15 ~ 30 min。
- 4、4°C 离心（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，PMSF 终浓度为 1 mM。低速离心悬浮细胞，弃上清液，手机沉淀。
- 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 的裂液的比例，加入 NP-40 Lysis Buffer。
- 3、4°C 离心 5 ~ 10 min(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，使 PMSF 终浓度为 1 mM。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 30 min 以上的组织，迅速用液氮研磨，研磨过程尽量控制之内，以减少蛋白的降解。
- 3、按照每 20 mg 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 $^{\circ}$ C 裂解。
- 4、4 $^{\circ}$ C 离心(如无低温离心机，室温下离心亦可)，取上清。
- 5、进行后续的 PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

