



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// www.real-times.com.cn

E-mail: real-times@vip.163.com

NP-40 裂解液

产品编号	名称	规格
RL1070	NP-40 裂解液	100 ml

● 产品简介：

NP-40 裂解液(NP-40 Lysis Buffer)是一种比较温和的细胞组织裂解液。NP-40 裂解液裂解得到的蛋白样品可以最大限度地保持蛋白的活性状态 (native)，可以用于常规的 Western、IP 和 co-IP 和 ELISA 等。NP-40 裂解液的主要成分为 Tris, NaCl, NP-40, pH7.3-7.5 等。裂解液中不含螯合剂如 EDTA 和 EGTA，也不含有任何蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂。用 NP-40 裂解液裂解得到的蛋白样品，可以用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度。由于含有较高浓度的去垢剂，不能用 Bradford 法测定样品的蛋白浓度。

注：由于 NP-40 裂解能力比较温和，如果提取核蛋白或者与染色质结合紧密的蛋白，提取效果会较弱，可以结合超声破碎提高提取效率。

● 贮存、运输及效期：

4-8℃贮存，常温运输，有效期一年。

● 实验准备：

需自备蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂；裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4℃ 进行。

● 使用说明：

1. 准备即用型裂解缓冲液：

向每 1 ml 预冷的裂解缓冲液中加入磷酸酶抑制剂（自备）、蛋白酶抑制剂（自备），混匀，冰上预冷待用。注：即用型缓冲液建议现用现配，30 分钟内使用。

2. 细胞总蛋白提取：

2.1 贴壁细胞：去除培养液，加入适量 1×PBS，轻柔漂洗一遍，不要扰动贴壁细胞。按照 6 孔板每孔加入 100-200 μl 裂解液的比例加入裂解液，移液器吹打数下，使裂解液和细胞充分接触，冰上裂解细胞 5 分钟，用细胞刮刀刮下细胞收集于 1.5 ml 离心管中，冰上继续裂解 15 分钟，间歇混匀。

培养板规格/培养皿表面积	细胞量	裂解液推荐使用量
100 mm 培养皿	1.5×10^7	0.5-1 ml
60 mm 培养皿	5×10^6	0.25-0.5 ml
35 mm 培养皿	2×10^6	0.2-0.4 ml
6 孔板	2.5×10^6	100-200 μl
24 孔板	5×10^5	100-150 μl
96 孔板	1×10^5	50-100 μl

2.2 悬浮细胞：450 g 4℃ 离心5 min收集细胞；用适量1×PBS重悬细胞，450 g 4℃ 离心5 min收集细胞；重复漂洗细胞一次；按照细胞沉淀体积（PCM）20 μl加入200 μl 裂解缓冲液的比例加入裂解液，混匀细胞沉淀，冰浴处理15分钟，间歇混匀。

注：2×10⁶ Jurkat细胞，其细胞沉淀体积（PCM，Packed Cell Volume）大约为20 μl。

2.3 裂解细胞：

裂解混合物超声波处理（超声条件根据自有仪器调整，参考条件：20%功率，冰浴超声3s停5s，时间5 min）；如没有超声破碎仪，可以使用注射器用27G针头处理裂解物10-15次，以彻底裂解细胞。冰浴处理15分钟。

注：裂解中细胞可能会释放出变性的核酸，呈团状粘稠透明样，如不进行超声或针头裂解处理，会导致裂解物非常粘稠，大大降低蛋白提取得率和纯度。研究蛋白互作实验，如Co-IP，考虑到超声处理会影响蛋白之间的结合，可以不进行超声处理。

2.4 离心收集上清：

充分裂解后，4℃ 16000 g离心10分钟，取上清，即可进行后续的PAGE、Western和免疫沉淀等操作。

3. 组织样品蛋白提取：

3.1 手术切除的组织块迅速置于预冷的PBS或生理盐水中，漂洗数次，洗净组织血迹，用滤纸吸干组织表面液体，将组织切成细小的碎片。

3.2 按照每20 mg组织加入200 μl裂解液的比例加入即用型裂解液。（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。）

3.3 用玻璃匀浆器冰浴匀浆5-10次，收集匀浆后的裂解混合物，超声波处理（超声条件根据自有仪器调整，参考条件：20%功率，冰浴超声3s停5s，时间5 min）；如没有超声破碎仪，可以使用注射器用27G针头处理裂解物10-15次，以彻底裂解细胞。裂解物冰浴处理15分钟。

注：裂解中细胞可能会释放出变性的核酸，呈团状粘稠透明样，如不进行超声或针头裂解处理，会导致裂解物非常粘稠，大大降低蛋白提取得率和纯度。

3.4 充分裂解后，4℃ 16000 g离心10分钟，取上清，即可进行后续的PAGE、Western和免疫沉淀等操作。

4. 注意事项

4.1 所有的试剂及器具均需预冷后使用，以保持蛋白质的完整性和活性。

4.2 产品中的保存条件及有效期均以未开封情况下计算，为了防止产品与空气接触发生化学反应影响产品性能，将未使用完毕的组分按存储要求保存同时建议开封后的组分尽快使用完毕。

4.3 裂解细胞步骤使用超声处理或针头处理极其关键，否则蛋白得率会很低。

4.4 提取的蛋白样品，进行变性电泳SDS-PAGE时可以直接使用；进行非变性电泳时（如BN PAGE），由于样品中高浓度的NP-40，可能导致泳道拖尾现象严重，此时需要将提取的蛋白样品进行充分稀释或者去除去垢剂。

4.5 提取的蛋白质可以采用BCA蛋白浓度测定试剂盒（目录号：RTP7102），由于裂解缓冲液中含有较高浓度的去垢剂，不能用Bradford法测定样品的蛋白浓度。