

NETN 细胞裂解液使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
ED-9024	NETN Cell Lysis Buffer	100ml
	使用说明书	1 份

【保存条件】

4 °C保存，有效期 1 年

【概述】

NETN 裂解液是一种经典的非离子型温和细胞裂解缓冲液。其组分经过优化，利用 0.5% NP-40 在维持生理盐浓度的条件下高效破碎细胞膜，同时最大限度地保留蛋白的天然折叠构象及蛋白质间的相互作用（Protein-Protein Interactions）。本品特别适用于 Western Blot、免疫沉淀（IP）及共免疫沉淀（Co-IP）等对蛋白活性及结合状态要求较高的实验。

本品主要成分为 20 mM Tris-HCl（pH 8.0）、100 mM NaCl、1 mM EDTA 和 0.5% NP-40，经 0.45 μm 滤膜过滤处理，可直接用于细胞裂解或组织蛋白提取。

【适用范围】

- 动物或人源细胞（贴壁/悬浮）
- 各类组织样品
- 在非强变性条件下需保留蛋白相互作用的实验，如 WB、IP、Co-IP 等

【操作方法】

NETN 细胞裂解液使用前需按推荐比例加入相应的蛋白酶或蛋白酶/磷酸酶抑制剂混合物（如 ES-8315 蛋白酶抑制剂混合物 Cocktail(通用型, 100×)或 ES-8317 蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(All-in-one, 50×)，现配现用），以下各实验步骤中所述裂解液用量均为已加入相应抑制剂后的体积。

1. 贴壁细胞裂解:

- ① 移除培养液，用冰冷 PBS 清洗 1 次。
- ② 加入适量 NETN 细胞裂解液（推荐 6 孔板每孔 200–400 μL，100mm 培养皿加入 800–1000 μL，具体可根据细胞量适当调整）。

- ③ 在冰上静置裂解 10–30 min，期间轻轻颠倒混匀 2–3 次。
- ④ 4 °C 下以 10,000–13,000×g 离心 5–10 min，取上清进行后续分析。

2. 悬浮细胞裂解:

- ① 收集细胞并离心去上清。重悬细胞于冰冷 PBS 并离心去除 PBS。
- ② 加入 NETN 细胞裂解液（推荐每 1×10^6 细胞加入 100–200 μ L，具体可根据调整）。
- ③ 冰上裂解 10–30 min，期间轻轻颠倒混匀 2–3 次。
- ④ 4 °C 下以 10,000–13,000×g 离心 5–10 min，取上清进行后续分析。

3. 组织样品裂解

- ① 将组织剪成小块并用冰冷 PBS 洗涤。
- ② 按每 20 mg 组织加入 200–400 μ L NETN 细胞裂解液的比例加入裂解液。
- ③ 在冰上用玻璃匀浆器匀浆或研磨直至充分裂解。
- ④ 冰上继续裂解 10–30 min。
- ⑤ 4 °C 下以 10,000–13,000×g 离心 5–10 min，取上清进行后续分析。

【注意事项】

1. 后续实验中蛋白浓度检测可使用 EK-5001 BCA 蛋白浓度测定试剂盒。
2. 不推荐本品用于高度疏水性膜蛋白或需完全变性条件的蛋白提取实验，如需提取膜蛋白可选择 EK-6030 ProEx 天然膜蛋白提取试剂盒或者 EK-6020 G 蛋白偶联受体（GPCR）蛋白提取和稳定试剂盒。
3. 蛋白提取完成后应尽快进行下游实验，如需保存请分装后置于–20°C或–80°C，避免反复冻融。
4. 如裂解后黏稠，可通过反复吹打或超声以降低黏度。
5. 蛋白提取完成后尽快进行下游实验，若暂时不用则–20 °C或更低温度保存。
6. 本品含 EDTA，不适用于进行金属亲和层析（如 Ni-NTA 纯化）或依赖二价金属离子的酶学实验。
7. 为了您的安全与健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。