

NP-40 细胞裂解液使用说明书

【包装规格】

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|---------|-------------------------|-------------|
| ES-8140 | NP-40 Cell Lysis Buffer | 100mL/500mL |
| | 使用说明书 | 1 份 |

【保存条件】

-20°C 保存，有效期 1 年

【概述】

NP-40 裂解液是一种非变性、性质温和的去污剂基裂解液，主要利用 1% 的 NP-40 破坏细胞膜。

核心优势：与 RIPA 等强力裂解液相比，NP-40 不破坏蛋白质的三级结构和分子间相互作用。

适用场景：极适用于需要维持蛋白活性的实验，如免疫沉淀 (IP)、免疫共沉淀 (Co-IP)、酶活性分析及 ELISA 等。同时也兼容常规的 SDS-PAGE 和 Western Blot。

样本兼容：广泛适用于动植物细胞/组织。配合溶菌酶或破壁酶后，亦可用于细菌和真菌样本。

【操作方法】

1. 准备工作

融解：裂解液可在室温或 37°C 快速融解，一旦融解必须立即置于冰上备用。

抑制剂添加：临用前，根据实验需求加入蛋白酶抑制剂（如 ES-8135）或磷酸酶抑制剂（如 ES-8136）。

2. 培养细胞处理

1) 贴壁细胞：

- ① 吸除培养液，用冰冷 PBS 洗涤一次。按 6 孔板每孔加入 150–250 μ L 裂解液（参考下表）。
- ② 移液器吹打数次，确保裂解液覆盖所有细胞，冰上孵育 2–10 分钟（植物细胞宜延长至 5–15 分钟）。

2) 悬浮细胞/微生物：

- ① **收集：**离心收集细胞，弹击管底以分散细胞。

动物悬浮细胞：1,000–15,00 \times g 离心 5 分钟。**细菌/酵母：**4,000–6,000 \times g 离心 5 分钟。弃上清，轻轻弹击管底使沉淀松动。

细菌/酵母建议先用**溶菌酶**或**破壁酶** (Lyticase) 消化处理，以获得更高回收率。

- ② **清洗与裂解：**用冰冷 PBS 洗涤一次，再次离心沉淀，弃尽残液，按比例加入含抑制剂的 NP-40 裂解液，冰上裂解 5-10 分钟。

3) **收集:** 10,000–14,000×g, 4°C 离心 3–5 分钟, 取上清蛋白, 推荐使用 BCA 法 (EK-5001) 测定蛋白浓度。

3. 组织样品处理

- ① **预处理:** 将组织剪切成细小碎片。
- ② **比例:** 按照每 20 mg 组织加入 150–250 μL 裂解液的比例加入 (含抑制剂)。
- ③ **破碎:** 使用玻璃匀浆器或组织研磨仪彻底粉碎 (或采用液氮研磨法)。若组织极其微小, 也可直接加入裂解液后强烈涡旋。冰上孵育 10–15 分钟。
- ④ **离心:** 10,000–14,000×g, 4°C 离心 3–5 分钟, 取上清蛋白, 推荐使用 BCA 法 (EK-5001) 测定蛋白浓度。

【附表: 不同培养器皿的裂解液参考用量】

为了达到最佳的裂解效果 (通常蛋白浓度在 2-4 mg/mL), 细胞长满 (100%汇合度) 时建议参考下表进行加液:

| 培养器皿类型 | 培养面积 (cm ²) | 细胞数量(个) | 裂解液建议用量 (μL) |
|-----------|-------------------------|---------------------|--------------|
| 6 孔板 (每孔) | 9.5 | 1×10 ⁶ | 150-250 |
| 3.5cm 培养皿 | 8 | 1×10 ⁶ | 150-250 |
| 6cm 培养皿 | 21 | 2.5×10 ⁶ | 500 |
| 10cm 培养皿 | 55 | 7×10 ⁶ | 1000 |
| T25 培养瓶 | 25 | 3×10 ⁶ | 500-600 |

【注意事项】

1. **全程冰上:** 蛋白降解酶在常温下活性剧增, 所有裂解步骤必须在冰上或 4°C 进行。
2. **基因组 DNA 干扰:** 若裂解后粘度过大, 提示基因组 DNA 释放。可适当延长离心时间或进行短暂的超声破碎处理 (Ice bath, 20% power, 3–5 seconds)。
3. **蛋白浓度:** 动物细胞: 100 万细胞约得 2-4 mg/mL 蛋白。组织样本: 20 mg 鼠肝约得 15–25 mg/mL 蛋白。
4. **安全防护:** 仅限于科研使用。操作时请佩戴实验服及一次性手套。