

RIPA 裂解液(弱)

简介:

多种成分均可以从细胞中提取总蛋白, 如 Triton、SDS、NP-40 等。RIPA 裂解液(弱) (Weak RIPA Lysis Buffer)是采用一种温和的裂解方法获得总蛋白的裂解液。所获得的蛋白质可用于 PAGE 电泳、Western、免疫沉淀(Immunol Precipitation, IP)和免疫共沉淀(co-IP)等。Weak RIPA Lysis Buffer 主要由 Tris 、NP-40、sodium deoxycholate 等组成, 并含有多种蛋白酶抑制剂成分, 可以有效抑制蛋白的降解, 并维持原有的蛋白间相互作用。

组成:

产品名称	PC005-100ml	PC005-500ml	Storage
RIPA 裂解液(弱)	100ml	500ml	-20°C
说明书			一份

储存条件:

-20°C, 12 个月有效。

操作步骤(仅供参考):

一)贴壁培养细胞

- 1、取 Weak RIPA Lysis Buffer 室温溶解混匀, 使用前取适量裂解液加入 PMSF, 使终浓度为 1mM。
- 2、去除贴壁细胞的培养液, 低速离心, 弃上清, 留取沉淀。
- 3、按照 6 孔板每孔加入 150 ~ 250 μ l 含有 PMSF 的裂解液的比例加入 Weak RIPA Lysis Buffer。移液器轻轻吹打, 使裂解液和细胞充分接触。通常裂解液作用于细胞内, 细胞就会被裂解/如果是所提蛋白样品用于 CHIP,应置于冰上或 4°C 裂解。
- 4、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 Western、染色质免疫共沉淀(ChIP)等操作。

二)悬浮培养细胞

- 1、取 Weak RIPA Lysis Buffer 置于室温溶解混匀后, 使用前取适量裂解液加入 PMSF, 使其最终浓度为 1mM。
- 2、低速离心悬浮细胞, 弃上清, 收集沉淀。
- 3、用手指轻弹细胞, 使其松散。按照 6 孔板每孔细胞加入 150 ~ 250 μ l 含有 PMSF 的裂解液的比例, 加入 Weak RIPA Lysis Buffer。
- 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 Western、染色质免疫共沉淀(ChIP)等操作。

三)组织样本



- 1、取 Weak RIPA Lysis Buffer 置于室温溶解混匀，使用前取适量裂解液加入 PMSF，使其最终浓度为 1mM。
- 2、把组织剪切成细小的碎片，越小越好。
- 3、取在液氮或超低温冰箱中冷冻以上的组织，迅速用液氮研磨，研磨过程尽量控制在 1~2min 之内，以减少蛋白的降解。
- 4、按 20mg 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。
- 5、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 Western、染色质免疫共沉淀(ChIP)等操作。

注意事项：

1. 去除贴壁细胞的培养液后，如果血清中的蛋白没有干扰，可以不用清洗。
2. 如果裂解不充分可以适当增加裂解液的用量，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. 在培养细胞的裂解中，如果细胞量较多，必需分装成 50-100 万细胞/离心管，然后再裂解。少量的细胞由于裂解液容易和细胞充分接触，相对比较容易裂解充分。
4. 如果组织样品本身非常细小，可以适当剪切后直接加入裂解液裂解，通过强烈 Vortex 使样品裂解充分。然后同样离心取上清，用于后续实验。
5. 溶解 Weak RIPA Lysis Buffer 时，应尽量缩短溶解时间，避免裂解液中的有效成分失效。
6. 细胞裂解的操作步骤，应置于冰上或 4 $^{\circ}$ C 进行。
7. 本产品仅供科研使用，严禁它用。

