

RIPA 裂解液(中)

产品简介:

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(中)(RIPA Lysis Buffer)是采用一种经典的细胞组织快速裂解并获得总蛋白的裂解液, 其裂解强度大于 NP-40 裂解液、RIPA 裂解液(弱)。所获得的蛋白质可用于 Western, 免疫沉淀(Immunol Precipitation, IP)等。

Medium 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	PC006-100ml	PC006-500ml	Storage
RIPA 裂解液(中)	100ml	500ml	2-8°C
PMSF	1ml	5ml	-20°C
说明书		一份	

储存条件:

2-8°C, 12 个月有效。

操作步骤 (仅供参考):

(一) 贴壁培养细胞

1、取 Medium RIPA Lysis Buffer 置室温溶解混匀, 使 PMSF 终浓度为 1mM。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 含有 PMSF 的裂解液的比例, 加入 Medium RIPA Lysis Buffer。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 裂解 15~30min, 通常裂解液作用于细胞 1~3 秒内, 细胞就会被裂解。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 Medium RIPA Lysis Buffer 置室温溶解混匀, 加入 PMSF, 使 PMSF 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 Medium RIPA Lysis Buffer。4、10000~12000g, 4°C 离心 5~



10min(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。

(三) 组织样本

- 1、 取 Medium RIPA Lysis Buffer 置室温溶解混匀, 使 PMSF 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 30min 以上的组织, 迅速用液氮研磨, 研磨过程尽量控制在之内, 以减少蛋白的降解。
- 4、 按照每 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、 步骤 3、4 亦可以采用如下过程: 按照每 20mg 组织加入 150 ~ 250 μ l 裂解液的比例, 加入含有 PMSF 的 Medium RIPA Lysis Buffer。
- 6、 离心(如无低温离心机, 室温下离心亦可), 取上清。 7、 进行后续的 PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

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、 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。
- 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。
- 5、 溶解 Leagene RIPA Lysis Buffer 时, 应尽量缩短溶解时间, 避免有效成分失效。
- 6、 裂解产物中经常会出现一小团透明胶状物, 属正常现象。该透明胶状物为含有基因组 DNA 等的复合物。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。

