

RIPA Lysis Buffer (Strong) RIPA 裂解液 (强)

产品信息:

产品名称: RIPA Lysis Buffer (Strong) RIPA 裂解液 (强)

规格:

目录号	产品名称	规格
X11582	RIPA Lysis Buffer (Strong) RIPA 裂解液 (强)	100ml

产品说明:

RIPA 裂解液(RIPA Lysis Buffer), 其本意是 Radio Immunoprecipitation Assay, 是一种传统的细胞组织快速裂解液, 对动物细胞胞膜、胞浆、胞核成分均有裂解作用。根据其裂解液的强度不同, 大致可以分为强、中、弱三类。

本品为裂解性较强的 1 x RIPA 裂解液, 主要成分为 50mM Tris-HCl (pH 7.4), 150mM NaCl, 1% Triton X- 100, 1%脱氧胆酸钠, 0.1% SDS, 以及正钒酸钠, 氟化钠, EDTA 和抑肽酶等多种抑制剂, 可广谱且有效抑制蛋白降解, 经本品裂解所得的蛋白样品, 适用于蛋白免疫印迹(Western Blot), 免疫沉淀(IP)等实验。经本品裂解收集的蛋白样品, 可使用增强型 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定总蛋白浓度。由于本品含有较高浓度的去垢剂, 不适合用 Bradford 法来测定总蛋白浓度。

保存: -20°C冻存, 有效期一年

运输: 冰袋运输

产品组成:

组分编号	组分名称	规格	储存方法
X11582-A	RIPA Lysis Buffer (Strong)	100ml	-20°C保存
X11582-B	PMSF (100mM)	1.5ml	-20°C保存

使用说明:

一、细胞样品

1. 融解 RIPA 裂解液, 混匀。取适当量的裂解液, 在使用前数分钟内加入 PMSF, 使 PMSF 的最终浓度为 1mM。

2. 贴壁细胞: 去除培养液, 用 PBS、生理盐水或无血清培养液清洗细胞一遍(如果血清中的蛋白没有干扰, 可以不洗)。按照 6 孔板每孔加入 150-250 μ L 裂解液的比例加入裂解液。用枪吹打数下, 使裂解液和细胞充分接触。通常裂解液接触细胞 1-2 秒后, 细胞就会被裂解。

悬浮细胞: 离心收集细胞, 用手指把细胞用力弹散。按照 6 孔板每孔细胞加入 150-250 μ L 裂解液的比例加入裂解液。再用手指轻弹以充分裂解细胞。充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。如果细胞量较多, 必需分装成 50-100 万细胞/管, 然后再裂解。

3. 充分裂解后, 10000-14000 g 离心 3-5 min, 取上清, 即可进行后续的 PAGE、Western 和免疫沉淀等操作。裂解液用量说明: 通常 6 孔板每孔细胞加入 150 μ L 裂解液已经足够, 但如果细胞密度非常高可以适当加大裂解液的用量到 200 μ L 或 250 μ L。

二、组织样品:

1. 把组织剪切成细小的碎片。
2. 融解 RIPA 裂解液, 混匀。取适当量的裂解液, 在使用前数分钟内加入 PMSF, 使 PMSF 的最终浓度为 1 mM。
3. 按照每 20 mg 组织加入 150-250 μ L 裂解液的比例加入裂解液。(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。)
4. 用玻璃匀浆器匀浆, 直至充分裂解。
5. 充分裂解后, 10000-14000 g 离心 3-5 min, 取上清, 即可进行后续的 PAGE、Western 和免疫沉淀等操作。
6. 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。直接裂解的优点是比较方便, 不必使用匀浆器, 缺点是不如使用匀浆器那样裂解得充分。

【注】RIPA 裂解液的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。在不检测和基因组 DNA 结合特别紧密的蛋白的情况下, 可以直接离心取上清用于后续实验; 如果需要检测和基因组结合特别紧密的蛋白, 则可以通过超声处理打碎打散该透明胶状物, 随后离心取上清用于后续实验。如果检测一些常见的转录因子, 例如 NF-kappaB、p53 等时, 通常不必进行超声处理, 就可以检测到这些转录因子。

注意事项:

- 1) 为取得最佳的使用效果, 尽量避免过多的反复冻融。可以适当分装后使用。
- 2) 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4 $^{\circ}$ C 进行。

本产品仅供科研使用, 不可用于临床诊断应用或其他用途。