

RIPA Lysis Buffer (Medium) RIPA 裂解液 (中)

产品信息:

产品名称: RIPA Lysis Buffer (Medium) RIPA 裂解液 (中)

规格:

目录号	产品名称	规格
X11583	RIPA Lysis Buffer (Medium) RIPA 裂解液 (中)	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。

本品属于裂解强度居中的 RIPA 裂解液, 含有 sodium orthovanadate, sodium fluoride, EDTA, leupeptin 等多种抑制剂, 可以有效抑制蛋白降解。裂解得到的蛋白样品可用于常规的 Western、IP 等实验。

保存: -20°C 冻存, 有效期一年

运输: 冰袋运输

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 5×10^5 - 1×10^6 个细胞/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) 需自备 PMSF。PMSF 可以向我司订购。
- 3) 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。