

## RIPA 裂解液(中)

产品货号: T0013C

产品包装: 50ml/100ml/500ml

### 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。

### 产品组成:

试剂名称	50ml	100ml	500ml	保存条件
Weak RIPA Lysis Buffer	50ml	100ml	500ml	-20℃
PMSF(100mM)	0.75ml	1.5ml	7.5ml	-20℃

### 操作步骤(仅供参考):

#### (一)贴壁培养细胞

1. 取 Weak RIPA Lysis Buffer 置于室温溶解混匀, 加入 PMSF, 使 PMSF 终浓度为 1mM。
2. 去除贴壁细胞的培养液, 用 PBS、NS 或无血清培养液清洗 1 次, 低速离心, 弃上清, 留取沉淀。
3. 按照 6 孔板每孔加入 150~250 $\mu$ 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。置于冰上或 4℃裂解, 通常裂解液作用于细胞 1~3s 内, 细胞就会被裂解。通常 6 孔板每孔细胞加入 150 $\mu$ 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 200~250 $\mu$ l。
4. 10000~12000g, 4℃离心 5~10min(如无低温离心机, 室温下离心亦可), 取上清。
5. 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 Weak RIPA Lysis Buffer 置室温溶解混匀后, 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 $\mu$ l 含有 PMSF 的裂解液的比例, 加入 Weak RIPA Lysis Buffer。通常 6 孔板每孔细胞加入 150 $\mu$ 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 200~250 $\mu$ l。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。
4. 10000~12000g, 4℃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 Weak RIPA Lysis Buffer 置于室温溶解混匀后, 加入 PMSF, 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 1~2min 之内, 以减少蛋白的降解。
4. 按照每 20mg 组织加入 150~250 $\mu$ l 裂解液的比例, 加入含有 PMSF 的裂解液。冰上或 4℃裂解 15~30min。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

5. 步骤3、4亦可以采用如下过程:按照每20mg组织加入150~250 $\mu$ l裂解液的比例加入含有PMSF的Weak RIPA Lysis Buffer。用玻璃匀浆器或组织研磨器匀浆,直至充分裂解,该过程尽量控制在1~2min之内,以减少蛋白的降解。
6. 10000~12000g, 4 $^{\circ}$ C离心5~10min(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. 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。大团的细胞较难裂解充分,而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。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比较充分。
5. 溶解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。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- $\kappa$ B、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。
7. 细胞裂解的操作步骤,应置于冰上或4 $^{\circ}$ C进行。

#### 有效期:

12个月有效。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>