

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 deoxycho late 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。该试剂仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成

名称 \ 编号	ADS0007S0	Storage
试剂(A): Medium RIPA Lysis Buffer	100ml	4°C
试剂(B): PMSF 溶液(100mM)	1.5ml	-20°C
使用说明书	1 份	

操作步骤(仅供参考)

配制含有 PMSF 的 Weak RIPA Lysis Buffer: 取 Weak RIPA Lysis Buffer 置于室温平衡, 加入 PMSF, 使其终浓度为 1mM, 临用前配制, 不可长期保存。

(一)贴壁细胞

- 1、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。
- 2、6 孔板每孔加入 150 ~ 250 μ l 含有 PMSF 的 Weak RIPA Lysis Buffer, 用手指轻弹细胞, 使其松散, 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, 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 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 ~ 250 μ l。
- 3、10000 ~ 12000g 4°C 离心 5 ~ 10min (如无低温离心机, 室温离心亦可), 取上清。
- 4、后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

(二)悬浮细胞

- 1、低速离心悬浮细胞, 弃上清, 用 PBS、NS 或无血清培养液清洗 1 次, 离心留取沉淀。
- 2、下同贴壁细胞 2 ~ 4 操作步骤。

(三)组织样本

- 1、组织剪碎，越小越好。
- 2、放置液氮或超低温冰箱中冷冻 30min，用液氮研磨，尽量控制在 1~2min 之内以减少蛋白的降解，每 20mg 组织加入 150~250μl 含有 PMSF 的 Medium RIPA Lysis Buffer，冰上或 4℃裂解 15~30min。
- 3、亦可按照每 20mg 组织加入 150~250μl 含有 PMSF 的 Medium 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 2~5min 以减少蛋白的降解。
- 4、下同贴壁细胞 2~4 操作步骤。

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裂解的充分。
- 5、Medium RIPA Lysis Buffer 含有特殊成分，在低温情况下有可能出现浑浊现象，可 37℃ 水浴促其溶解，不会影响使用效果；溶解时间不易过长，避免成分失效，4℃保存即可，长期不用亦可 -20℃保存。
- 6、PMSF 溶液可置 4℃保存 1~2 周，-20℃可保存 1 年以上，室温放置 2 天即可能失效。
- 7、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。
- 8、细胞裂解的操作步骤，应置于冰上或 4℃进行。

有效期：12 个月有效，低温运输，按要求保存。