

RIPA裂解液(强)

产品简介:

多种成分均可以从细胞中提取总蛋白, 例如Triton、SDS、NP-40等, RIPA裂解液(强)(Enhanced 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(中), 所获得的蛋白质可以用于Western,免疫沉淀(Immunol Precipitation, IP)等。

Leagene Enhanced RIPA Lysis Buffer E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。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:

产品编号	产品名称	产品规格	保存条件
HC0887	试剂(A): Enhanced RIPA Lysis Buffer	100ml	4°C
	试剂(B):PMSF溶液(100mM)	1.5ml	-20°C

操作步骤(仅供参考):

配制含有 PMSF Enhanced RIPA Lysis Buffer: 取 Enhanced 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Enhanced 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150~250 μ l含有 PMSF的Enhanced RIPA Lysis Buffer, 冰上或4°C裂解 15~30min。
- 3、亦可按照每20mg 组织加入150~250 μ l含有 PMSF 的Enhanced 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之内以减少蛋白的降解。
- 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、Enhanced RIPA Lysis Buffer 含有Leagene特殊成分，在低温情况下有可能出现浑浊现象，可37°C水浴促其溶解，不影响使用效果;溶解时间不易过长，避免成分失效，4度保存即可，长期不用亦可-20°C保存。
- 6、PMSF溶液可置4°C保存1~2周，-20°C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°C进行。
- 9、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期:12个月有效;低温运输，按要求保存。