

RIPA Lysis Buffer, Strong

RIPA 裂解液(强)

货号	规格
DE301-01	100 ml

货号 DE301-01

保存: 15-25℃

运输: 常温

【产品概述】

RIPA Lysis Buffer 是一类经典的细胞和组织快速裂解液, 对动物细胞胞膜、胞浆、胞核成分均有较强的裂解作用, 提取的蛋白样品多用于 Westernblot 和IP 等检测。RIPA 裂解液的配方有很多种, 本产品的主要裂解成分为 1% Triton X-100、0.1% SDS、1% Sodium Deoxycholate 以及 Sodium fluoride、EDTA 等多种磷酸酶抑制剂。

本品可以和常规的蛋白酶抑制剂联合使用, 以达到更好的提取效果。

用本产品提取得到的蛋白样品含有较高浓度的去垢剂, 因此不能用 Bradford 法测定样品的蛋白浓度, 但可以用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (Cat. No. DE201-01) 测定蛋白浓度。

【产品组分】

RIPA Lysis Buffer, Strong 100 ml

【主要成分】

50 mM TrisCl (pH7.4), 150 mM NaCl, 1% Triton X-100, 1% Sodium Deoxycholate, 0.1% SDS, Sodium Orthovanadate, Sodium Fluoride, EDTA 等。

【保存条件】

室温保存一年。加入蛋白酶抑制剂后建议适量分装-20℃冻存, 避免反复冻融。

【使用方法】

用户需自备的试剂: DTT、PMSF、Aprotinin、Leupeptin、Peptinin, 或蛋白酶抑制剂混合物 (Cat. No: DE1310-01)

1. 使用前 RIPA 裂解液(强)应充分混匀。或者 40-50℃水浴加热溶解后使用。初次使用建议按需分装后冻存。

2. 取适量 RIPA 裂解液(强), 在使用前数分钟内加入终浓度为 1 mM 的PMSF 和10 mM 的DTT, 并可根据目标蛋白是否易被蛋白酶降解, 有选择地加入终浓度为 10 µg/ml 的Aprotinin、Leupeptin 和/或Peptinin。

**如果样品不够新鲜, 或者提取的蛋白有被降解的情况, 可在此步骤中加入适量的蛋白酶抑制剂(加入量参看您所使用蛋白酶抑制剂的产品说明)若在第 1 步后加入了蛋白酶抑制剂, 则需要按需分装冻存, 避免反复冻融。*

3. 根据样品类型进行下述操作:

1) 贴壁培养细胞:

a. 去除培养液, 用 PBS、生理盐水或无血清培养液清洗一遍; 如果目标蛋白检测不受血清中蛋白的影响, 可以不清洗细胞;

b. 按照 6 孔板每孔加入 150-250 µl 裂解液的比例加入裂解液, 用移液器吹打数下, 使裂解液和细胞充分接触, 通常细胞可在 1-2 秒种内裂解。

2) 悬浮培养细胞:

a. 离心收集细胞;

b. 按照 6 孔板每孔加入 150-250 µl 裂解液的比例加入裂解液, 用移液器吹打数下, 使裂解液和细胞充分接触, 通常细胞可在 1-2 秒种内裂解。

注意: 加入的裂解液体积可根据细胞密度进行调整, 通常 6 孔板每孔细胞只需加入 150 µl 裂解液, 但如果细胞密度非常高, 可以适当加大裂解液的体积到 200-250 µl。

3) 组织样品:

- a. 将组织剪切成细小的碎片
- b. 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增加裂解液的用量; 如果需要得到高浓度的蛋白样品, 可适当减少裂解液的用量;
- c. 使用玻璃匀浆器匀浆, 直至充分裂解。

注意: 对非常细小的组织样品, 可不必使用匀浆器; 适当剪切后直接加入裂解液裂解, 剧烈振荡混匀, 使样品充分裂解。

4. 样品充分裂解后, 4 $^{\circ}$ C下 10,000-14,000 x g 离心 5 min, 吸取上清液, 直接进行后续的 PAGE、Western blot 和免疫沉淀等操作。

注意: RIPA 裂解液(强)的裂解产物中经常会出现透明胶状物, 其主要成分为基因组 DNA。当检测的目标蛋白不与基因组 DNA 紧密结合的情况下, 可以直接离心裂解产物, 取上清液用于后续实验; 如果需要检测与基因组结合非常紧密的蛋白时, 可通过超声处理打碎打散透明胶状物, 随后离心取上清液用于后续实验; 用于常见的转录因子(如 NF- κ B、P53 等)的检测时, 可不必进行超声处理。

【附录】

各种细胞裂解液的性能比较

产 品 名 称		RIPA Lysis Buffer (Strong)	NP-40 Lysis Buffer	Cell Lysis Buffer for Western & IP
货 号		DE301-01	DE304-01	DE305-01
裂 解 强 度		***	*	*
有效成分	Triton X-100	*	—	*
	NP-40	—	*	—
	SDS	*	—	—
	蛋白酶抑制剂	—	—	—
	磷酸酯酶抑制剂	*	*	*
用 途	Western Blot	*	*	*
	免疫沉淀 (IP)	*	*	*
	免疫共沉淀 (Co-IP)	—	*	*
	膜蛋白	***	*	*
	胞浆蛋白	***	***	***
	核蛋白	***	**	**
	磷酸化蛋白	***	***	***
兼容性	Bradford 法蛋白定量	—	—	—
	BCA 法蛋白定量	*	*	*

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下, 本公司对此产品所承担的责任, 仅限于此产品的价值本身。