

RIPA Lysis Buffer(strong, No inhibitors) RIPA 裂解液(强, 无抑制剂)

产品简介

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、胞核成分均有较强裂解作用。根据其裂解液的强度不同, 大致可以分为强、中、弱三类。本品为裂解强度相对较强的 RIPA 裂解液 (强, 无抑制剂), **不含蛋白酶抑制剂和磷酸酯酶抑制剂**, 使用本裂解液时, 用户可以根据具体用途自行添加特定抑制剂或者不添加抑制剂。裂解得到的蛋白样品可用于常规的 Western、IP 等实验。

产品信息

货号	20120ES60
规格	100 mL

储存条件

-25~-15°C保存, 有效期 1 年。尽量避免反复冻融, 建议分装后使用。

使用说明

(一) 细胞样品

1. 融解 RIPA 裂解液 (强, 无抑制剂), 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。或根据实验需要加入总体效果更佳的蛋白酶抑制剂混合物 (Cat#20123ES/20124ES), 如检测磷酸化蛋白, 还需加入磷酸酶抑制剂混合物 (Cat#20109ES)。
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。细胞充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。
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。因为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。
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 (强, 无抑制剂), 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, 或根据实验需要加入总体效果更佳的蛋白酶抑制剂混合物 (Cat#20123ES/20124ES), 如检测磷酸化蛋白, 还需加入磷酸酶抑制剂混合物 (Cat#20109ES)。
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. 需自备 PMSF 或总体效果更佳的蛋白酶抑制剂混合物 (Cat#20123ES/20124ES)、根据不同样本专用的蛋白酶抑制剂混合物 (Cat#20134ES-20138ES)，如检测磷酸化蛋白，还需加入磷酸酶抑制剂混合物 (Cat#20109ES)。
2. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4°C 进行。
3. 用 RIPA 裂解液（强，无抑制剂）裂解得到的蛋白样品，可以用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定其蛋白浓度 (Cat#20201ES/20200ES)。由于含有较高浓度的去垢剂，不能用 Bradford 法测定由本裂解液裂解得到样品的蛋白浓度。
4. 本产品仅作科研用途。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。