

RIPA 裂解液(强)

Enhanced RIPA Lysis Buffer



产品详情

产品货号	产品名称	储存条件	保质期
S13041	RIPA 裂解液(强)	-20℃	1 年

基本信息:

中文名称	RIPA 裂解液(强)
应用	裂解细胞提取总蛋白质,主要用于 Western, 免疫沉淀

产品简介:

1. 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。
2. 本品 Enhanced 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。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	规格	保存
试剂(A):Enhanced RIPA Lysis Buffer	100ml	2-8℃
试剂(B):PMSF 溶液(100mM)	1.5ml	-20℃

操作步骤(仅供参考):

配制含有 PMSF 的 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℃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℃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℃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℃ 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。
9. 试剂开封后请尽快使用, 以防影响后续实验效果。
10. 我司生产的生化试剂如无特殊标注, 基本为非无菌包装, 若用于细胞实验, 请提前做好预处理。需低温保存的产品, 一旦配成溶液, 请分装保存, 避免反复冻融造成的产品失效。
11. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗, 食品及化妆品等用途。请勿存放于普通住宅区。
12. 为了您的安全和健康, 请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作。
13. 实验结果可由多种因素影响, 相关处理只限于产品本身, 不涉及其他赔偿。

免责声明:本公司将不为任何不正常使用此产品时所发生的意外负责。

北京伊事达科技有限公司

电话: 13564444959

官网: www.followme-shop.com

地址: 北京市海淀区东北旺西路 58 号尚科办公社区 C 区一楼



公众号

客服