

RIPA 裂解液 (中)

货号: FWP103 规格: 100ml

【原理】

RIPA 裂解液(RIPA Lysis Buffer)是一种传统的细胞组织快速裂解液。RIPA 裂解液裂解得到的蛋白样品可以用于常规的 Western、IP 等。RIPA 的本意是 Radio Immunoprecipitation Assay。RIPA 裂解液的配方有很多种, 本产品 RIPA 裂解液的主要成分为 Tris(pH8.0), NaCl, NP40, EDTA 等。该试剂盒含有较低盐离子浓度, 更加适合免疫共沉淀等实验。

【实验所需试剂但未提供的物品】

蛋白酶体抑制剂及根据实验需要其他酶抑制剂 (比如磷酸酶抑制剂)

【储存条件及有效期】

- 1、4°C条件下保存。
- 2、本试剂盒有效期一年, 请在有效期内使用。
- 3、为了避免试剂长时间暴露于空气中发生挥发、氧化、pH 值变化, 各溶液使用后应及时盖紧盖子。

【使用方法】

对于培养细胞样品:

1. 取适当量的裂解液, 在使用前数分钟内加入蛋白酶体抑制剂等。
2. 样本处理

对于贴壁细胞, 去除培养液, 用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗一遍。按照 6 孔板每孔加入 100-200 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。通常裂解液接触细胞 1-2 秒后, 细胞就会被裂解。

对于悬浮细胞, 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 100-200 μ L 裂解液的比例加入

裂解液。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，必须分装成 50-100 万细胞/管，然后再裂解。

3. 一般裂解时间建议 15-20 分钟可以充分裂解，而后 4°C，10000-14000g 离心 3-5 分钟，取上清，即可进行后续的 PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

裂解液用量说明：通常 6 孔板每孔细胞加入 100 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 150 μ L 或 200 μ L 。

对于组织样品：

1. 取适当量的裂解液，在使用前数分钟内加入蛋白酶体抑制等。
2. 把组织剪切成细小的碎片。
3. 按照每 20 毫克组织加入 100-200 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，10000-14000g 离心 3-5 分钟，取上清，即可进行后续的 PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。
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比较充分。

【注意事项】

1. 用户使用前需加入蛋白酶抑制剂如 PMSF 或者根据需要再加入 leupeptin, aprotinin 等其它抑制剂。
2. 裂解蛋白的所有步骤都需在冰上或 4°C 进行。