

RIPA 裂解液 (中)

货号: NGR015M 100ml

储存事项: 4°C保存, 有效期 12 个月。

试剂盒组成	保存	100ml
RIPA 裂解液 (中)	4°C	100 ml
PMSF (100×)	-20°C	1ml

产品介绍:

RIPA 裂解液(中)(RIPA Lysis Buffer-middle)是一种中效的细胞组织裂解液。裂解得到的蛋白样品可以用于常规的 PAGE、Western、免疫沉淀(immunol precipitation, IP)、免疫共沉淀(co-IP)和 ELISA 等。本公司的裂解液可根据其裂解强度不同, 分为强、中、弱三类。

注意事项:

1. 用户可根据不同细胞蛋白的溶解程度自行选择强、中、弱三种裂解液。
2. 对于某些难溶解蛋白的 Western 及特殊蛋白的 IP, 推荐使用裂解强度高的裂解液效果比较理想。
3. 本系列蛋白提取试剂所提取的蛋白由于含有去污剂, 所以不适合使用 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒, 请选择 BCA 法或者 Lowry 法检测蛋白浓度。
4. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4°C 进行。
5. 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。

操作步骤: (实验前请先阅读注意事项)

如发现 RIPA 有沉淀, 请放室温半小时或者常温水浴使沉淀溶解。根据使用量, 取每 1ml RIPA 加入 10ul PMSF(100mM), 使 PMSF 的最终浓度为 1mM。或根据实验需要加入适当蛋白酶抑制剂混合物和/磷酸酶抑制剂混合物。样本裂解均需要冰上或低温操作, 裂解时间 10-30 分钟,

样品前处理

贴壁细胞:

弃掉培养液, 用 PBS 或生理盐水漂洗细胞一遍, 按照 6 孔板每孔加入 150-250 微升裂解液的比例加入裂解液, 具体体积参照细胞密度决定, 吸取裂解液用移液枪吹打贴壁细胞, 使裂解液和细胞充分接触, 本步操作宜在冰板下进行。

悬浮细胞:

离心 1200rpm, 5min 后收集细胞, 轻轻弹击管底把细胞尽量分散开, 按照 6 孔板每孔细胞加入 150-250 微升裂解液的比例加入裂解液, 轻弹管底以充分裂解细胞, 裂解至没有明显的细胞沉淀, 此时细胞裂解完全。如果细胞量多, 必需分装成 50-100 万细胞/管, 然后再裂解。

细菌或酵母:

取 1ml 菌液或酵母液, 离心去上清, 充分去除液体后, 加入 100-200 微升裂解液, 轻弹管底以充分裂解细胞, 于冰上裂解 2-10min 至裂解完全。

组织样品:

组织剪切成细小的碎片, 按照每 20 毫克组织加入 150-250 微升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。)用玻璃匀浆器匀浆直至充分裂解。

蛋白样品收集

充分裂解后, 10000-14000g 离心 5 分钟, 取上清, 即可进行后续蛋白浓度测定、SDS-PAGE、Western blotting、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。