

RIPA 裂解液 (强)

货号: NGR005M 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 (强) | 4°C | 100 ml |
| PMSF (100×) | -20°C | 1ml |

产品介绍:

RIPA 裂解液 (强) (RIPA Lysis Buffer-high)是一种高效的细胞/组织裂解液。RIPA 裂解液含有多种蛋白酶抑制剂, 可有效减少蛋白降解, 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。惠凌生物的裂解液可根据其裂解强度不同, 分为强、中、弱三类。

产品特点:

- 1.裂解高效 经短时间作用即可完全裂解;
- 2.轻松便捷 本产品内包含多种蛋白酶抑制剂, 可以有效抑制蛋白降解;
- 3.应用广泛 可裂解动物、植物的细胞或组织样品, 也可用于真菌或细菌样品等。

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.为取得最佳的使用效果, 尽量避免过多的反复冻融。可以适当分装后使用。
- 5.裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4°C进行。
- 6.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。
- 7.本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 8.为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

操作步骤: (实验前请先阅读注意事项)

融解 RIPA 裂解液, 取适量裂解液, 在使用前数分钟内加入 PMSF, 使终浓度为 1mM, 或根据实验需要加入适当蛋白酶抑制剂复合物或/和磷酸酶抑制剂混合物。

1. 细胞样品

贴壁细胞

1. 弃掉培养液, 用 PBS 或生理盐水漂洗细胞一遍。
2. 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。
3. 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。通常情况下, 动物细胞接触裂解液 1-2 秒后会被裂解。

悬浮细胞

1. 离心 1200rpm, 5min 后收集细胞, 轻轻弹击管底把细胞尽量分散开。
2. 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

1. 取 1ml 菌液或酵母液，离心去上清。
2. 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。

2.组织样品

1. 组织剪切成细小的碎片。
2. 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。)
3. 用玻璃匀浆器匀浆直至充分裂解，也可以把组织样品冷冻后液氮研磨，研磨充分后加入裂解液进行裂解。

3.蛋白样品收集

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。

