



RIPA裂解液(中)

说明书

【产品简介】

诺伦生产的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裂解液的配方有很多种,根据其裂解液的强度大致可以分为强、中、弱三类。RIPA裂解液(中)的主要成分为50mM Tris (pH 7.4), 150mM NaCl, 1% NP-40, 0.5% sodium deoxycholate, 0.1% SDS, 以及sodium orthovanadate, sodium fluoride, EDTA, leupeptin等多种抑制剂。可以有效抑制蛋白降解。用RIPA裂解液裂解得到的蛋白样品,可以用诺伦生产的BCA蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度。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。

【试剂盒组成】

| | |
|------------|-------|
| 试剂盒组成 | LP002 |
| RIPA裂解液(中) | 100ml |
| 说明书 | 1份 |

【运输及储存条件】

试剂运输可在 4-8℃ 环境下进行。-20℃ 保存, 一年有效。

【注意事项】

1. 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。
2. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或4℃进行。
3. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

【使用说明】

对于培养细胞样品:

1. 融解RIPA裂解液, 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1mM。(本试剂盒内添加了蛋白酶抑制剂, 也可以不加PMSF。)
2. 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(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微升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150-250微升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50-100万细胞/管, 然后再裂解。
3. 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微升裂解液已经足够, 但如果细胞密度非常高可以适当加大裂解液的用量到200微升或250微升。

对于组织样品:

1. 把组织剪切成细小的碎片。
2. 融解RIPA裂解液, 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1mM。(本试剂盒内添加了蛋白酶抑制剂, 也可以不加PMSF。)
3. 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。)
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比较充分。

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。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。

附: 诺伦生产的各种裂解液主要特点、差异和选择

首先请参考下表,了解各种裂解液的主要特点和差异。

| 产品编号 | LP001 | LP002 | LP003 | LP004 | LP005 |
|-----------|---|---|------------------------------------|--------------|----------|
| 产品名称 | RIPA 裂解液(强) | RIPA 裂解液(中) | RIPA 裂解液(弱) | NP-40 裂解液 | SDS 裂解液 |
| 有效裂解成分 | 1% Triton X-100, 1% deoxycholate, 0.1% SDS | 1% NP-40, 0.5% deoxycholate, 0.1% SDS | 1% NP-40, 0.25% deoxycholate | 1% NP-40 | 1% SDS |
| 裂解强度 | 强 | 中 | 温和 | 温和 | 强 |
| 对膜蛋白的提取 | 很好 | 较好 | 一般 | 一般 | 很好 |
| 对胞浆蛋白的提取 | 很好 | 很好 | 很好 | 很好 | 很好 |
| 对核蛋白的提取 | 很好 | 较好 | 较好 | 较好 | 很好 |
| 胞浆磷酸化蛋白提取 | 很好 | 很好 | 很好 | 很好 | 很好 |
| 细胞核转录因子提取 | 很好 | 很好 | 很好 | 很好 | 很好 |
| 含蛋白酶抑制剂 | 是 | 是 | 是 | 是 | 是 |
| 含磷酸酯酶抑制剂 | 是 | 是 | 是 | 是 | 是 |
| 主要用途 | WB, IP | WB, IP | WB, IP, co-IP | WB, IP,co-IP | WB, ChIP |

注: 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。