



RIPA 裂解液 (中)

包装清单

Cat No.	组分	包装规格-100mL
MCK-0015	RIPA 裂解液 (中)	100 mL
	说明书	1 份

产品简介

默科的 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 PAGE、Western、免疫沉淀(immunol precipitation, IP)、免疫共沉淀(co-IP)和 ELISA 等。本产品可以用于动物、植物的细胞或组织样品,也可以用于真菌或细菌样品。

RIPA 的本意是 Radio Immunoprecipitation Assay。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,可以用默科生产的 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 Bradford 法测定由本裂解液裂解得到样品的蛋白浓度。

保存条件

-20℃ 保存,有效期 1 年。

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. 需自备 PMSF。
3. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4℃ 进行。
4. 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。
5. 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

1. 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 或者根据实验需要加入适当的上述蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物。

(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 150-250μL 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。通常裂解液接触动物细胞 1-2 秒后,细胞就会被裂解。植物细胞宜在冰上裂解 2-10min。

对于悬浮细胞: 离心收集细胞,轻轻 vortex 或者弹击管底以把细胞尽量分散开。按照 6 孔板每孔细胞加入 150-250μL 裂解液的比例加入裂解液。轻弹管底以充分裂解细胞。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。

对于细菌或酵母: 对于 1mL 菌液或酵母液,离心去上清,如果有必要可以使用 PBS 洗涤一次,充分去除液体后,轻轻 vortex 或者弹击管底以把细菌或酵母尽量分散。加入 100-200μL 裂解液,轻轻 vortex 或者弹击管底以混匀,冰上裂解 2-10min。如果希望获得更好的裂解效果,细菌和酵母可以分别使用溶菌酶和破壁酶(Lyticase)消化,然后再使用本裂解液进行裂解。

裂解液用量说明: 通常 6 孔板每孔细胞或者 1mL 的菌液或酵母液中的细菌和酵母量加入 150μL 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 200μL 或 250μL。每 100 万动物细胞用 100μL 本产品裂解后获得的上清,其蛋白浓度约为 2-4mg/mL,不同细胞有所不同。

(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。

2. 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,或者根据实验需要加入适当的上述蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物。

(3) 按照每 20mg 组织加入 150-250μL 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,或使用手持式组织研磨仪研磨,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。



(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。每 20mg 冻存的小鼠肝脏组织用 200 μ L 本裂解液裂解后获得的上清, 其蛋白浓度约为 15-25mg/mL, 不同状态的不同组织有所不同。

(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, 不必使用匀浆器或研磨设备, 缺点是不如匀浆或研磨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。