

RIPA 裂解液(弱)

产品编号	产品名称	包装
SB-BR040R	RIPA 裂解液(弱)	100 ml

产品简介:

- 上海圣尔生物科技有限公司生产的 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 PAGE、Western、免疫沉淀(immunoprecipitation, 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(弱)的主要成分为 50 mM Tris (pH7.4), 150 mM NaCl, 1% NP-40, 0.25% sodium deoxycholate, 以及 sodium orthovanadate, sodium fluoride, EDTA, leupeptin, 混合型蛋白酶抑制剂等多种抑制剂。可以有效抑制蛋白降解。
- 用 RIPA 裂解液裂解得到的蛋白样品,可以用上海圣尔生产的 BCA 蛋白浓度测定试剂盒(SB-WB013)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。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
SB-BR040R	RIPA 裂解液(弱)	100 ml
—	说明书	1 份

保存条件:

4°C 保存 2 年, -20°C 长期保存

注意事项:

- 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。
- 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4°C 进行。
- 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。
- 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:

- 融解 RIPA 裂解液,混匀。本产品已预加蛋白酶抑制剂混合物,可根据实验需求确定是否添加磷酸酶抑制剂。
- 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 2-10 min。
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 150-250 微升裂解液的比例加入裂解液。轻弹管底以充分裂解细胞。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。

对于细菌或酵母: 对于 1 ml 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弹散。加入 100-200 微升裂解液,轻轻 vortex 或者弹击管底以混匀,冰上裂解 2-10 min。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 1 ml 的菌液或酵母液中的细菌和酵母量加入 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。每 100 万动物细胞用 100 微升本产品裂解后获得的上清,其蛋白浓度约为 2-4 mg/ml,不同细胞有所不同。

- 充分裂解后,10000-14000 g 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。

2. 对于组织样品：

- a. 把组织剪切成细小的碎片。
- b. 融解 RIPA 裂解液，混匀。本产品已预加蛋白酶抑制剂混合物，可根据实验需求确定是否添加磷酸酶抑制剂。
- c. 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。)
- d. 用玻璃匀浆器匀浆，或使用上海圣尔生产的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。
- e. 充分裂解后，10000-14000 g 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。每 20 mg 冻存的小鼠肝脏组织用 200 微升本裂解液裂解后获得的上清，其蛋白浓度约为 15-25 mg/ml，不同状态的不同组织有所不同。
- f. 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。

- 对于某些特殊蛋白的 IP，如果发现 IP 的时候背景很高，即非特异的蛋白也被 IP 下来，则需要选用裂解强度较高的裂解液，例如 RIPA 裂解液(强)。如果发现目的蛋白无法被 IP 下来，则说明裂解液的强度过强，可以使用较为温和的裂解液例如 RIPA 裂解液(弱)。
- 对于某些难溶解蛋白的 Western，可以尝试使用裂解强度更高的裂解液例如 RIPA 裂解液(强)。