



RIPA 裂解液(弱)

产品货号: AR0108-100

产品批号: 见外包装标签

产品规格: 100ml

产品保存: 4℃保存, 一年有效。

产品说明: RIPA 裂解液是一种传统的细胞组织快速裂解液, 其主要成分含 1% NP-40, 0.25% Sodium deoxycholate, EDTA 等, 裂解液裂解得到的蛋白样品可以用于报告基因分析, Western, IP, Co-IP, 蛋白纯化等。

产品特点:

1. 可用 10 克组织和 10×10^8 个细胞的提取。
2. 整个蛋白提取过程用时约 60 分钟。
3. 提取的为全蛋白, 包括胞核, 胞膜及胞浆蛋白。

注意事项:

1. 抽提蛋白的所有步骤都需在冰上或 4℃ 进行。
2. 裂解得到的蛋白样品, 含有较高浓度的去垢剂, 不建议用 Bradford 法测定蛋白浓度, 可以选用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。
3. 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 κ B、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。

使用方法:

注意: 取适当量的裂解液, 放与 4℃ 预冷, 使用前数分钟内需加入酶抑制剂。

细胞样品:

1. 对于贴壁细胞, 去除培养液, 用预冷的 PBS 洗一遍 (可以直接将裂解液加入培养细胞的器皿中裂解细胞, 对于不同规格标准培养板裂解液用量可见下表), 并用细胞刮刮下细胞。600g 离心 5 分钟收集细胞, 尽量吸尽上清, 加入适量的预冷的裂解液(5×10^6 个细胞加入 0.5ml 的裂解液), 用移液器吹打数下, 冰上孵育 30 分钟, 10000g 离心 10 分钟, 取上清,



即为蛋白提取物。

2. 对于悬浮细胞, 600g 离心 5min 收集细胞, 用预冷的 PBS 洗一遍, 600g 离心 5min 收集细胞, 尽量吸尽上清, 加入适量的预冷的裂解液 (5×10^6 个细胞加入 0.5ml 的裂解液)。用移液器吹打数下, 冰上孵育 30 分钟, 10000g 离心 10 分钟, 取上清, 即为蛋白提取物。

板规格/表面积	试剂用量
100mm	500~1000ul
60mm	250~500ul
6-well plate	200~400ul per well
24-well plate	100~200ul per well
96-well plate	50~100ul per well

组织样品:

1. 手术切除的组织块迅速置于预冷的生理盐水中, 漂洗数次, 洗净组织血迹, 用滤纸吸干组织表面液体, 将组织切成几个较小的组织块。

2. 称量组织, 按组织净重 (g): 裂解液 (ml)=1: 10 的比例, 加入相应体积的的预冷的裂解液进行匀浆 (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, 以适当减少裂解液的用量)。

注意: 匀浆后肉眼观察应没有明显的组织小块。

3. 冰上孵育 30 分钟。

4. 10000g 离心 10 分钟, 取上清, 即为蛋白提取物。