

RIPA 裂解液

目录编号: T16003

产品规格: 100ml

保存条件: 运输 4℃, 长期保存 -20℃

产品简介:

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 的本意是 Radio Immunoprecipitation Assay。本产品 RIPA 裂解液的主要成分为 50mM Tris (pH7.4), 150mM NaCl, 1% Triton X-100, 1% sodium deoxycholate, 0.1% SDS 等。

操作步骤:

1. 对于培养细胞样品:

1) 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)。按照每 10^7 细胞加入 200 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。

2) 对于悬浮细胞, 离心收集细胞, 用手指把细胞用力弹散。按照每 10^7 细胞加入 200 微升裂解液的比例加入裂解液。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, 可适量添加裂解液。

3) 充分裂解后, 10000-14000rpm 离心 5-10 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:

1) 把组织剪切成细小的碎片。

2) 按照每 20 毫克组织加入 100-200 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) 用玻璃匀浆器冰上匀浆, 直至充分裂解。

4) 充分裂解后, 10000-14000rpm 离心 5-10 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。

5) 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。

注意事项:

1. 裂解得到的蛋白样品, 由于含有较高浓度的去垢剂干扰, 不能用 Bradford 法测定蛋白浓度, 可以选用本公司生产的 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。

2. 用户使用前可根据需要加入蛋白酶抑制剂如 PMSF 或者根据需要再加入 leupeptin, aprotinin 等其它抑制剂。

3. 裂解液中 SDS 4℃ 保存易沉淀析出, 使用前应该 37℃-60℃ 水浴重新溶解完全后回复到室温使用。

4. 裂解蛋白的所有步骤都需在冰上或 4℃ 进行。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com