

RIPA裂解液（强,无抑制剂）

产品货号：T15167

产品规格：100ml/500ml

产品简介：

多种成分均可以从细胞中提取总蛋白，例如Triton、SDS、NP-40等。RIPA裂解液(强) (Enhanced RIPA lysis buffer ,without inhibitors)是采用一种经典的细胞组织快速裂解，并获得总蛋白的裂解液，其裂解强度大于NP-40裂解液、RIPA裂解液(中)。所获得的蛋白质可以用于Western，免疫沉淀(Immunol Precipitation, IP)等。

Enhanced RIPA lysis buffer without inhibitors 主要由Tris 、NP-40、sodium deoxycholate等组成，不含蛋白酶和磷酸酶抑制剂，并维持原有的蛋白间相互作用。

产品组成

名称	规格	保存条件
RIPA裂解液（强,无抑制剂）	100ml/500ml	-20℃

操作步骤 (仅供参考)：

(一)贴壁培养细胞

1. 取Enhanced RIPA lysis buffer室温溶解混匀，根据需要选择添加或不添加抑制剂。
2. 去除贴壁细胞的培养液，用PBS、NS或无血清培养液清洗1次，低速离心，弃上清，留取沉淀。
3. 按照6孔板每孔加入150~250 μ l含有PMSF的裂解液的比例，加入RIPA Lysis Buffer。移液器轻轻吹打，使裂解液和细胞充分接触。置于冰上或4℃裂解15~30min，通常裂解液作用于细胞1~3秒内，细胞就会被裂解。通常6孔板每孔细胞加入150 μ l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200~250 μ l。
4. 10000~12000g，4℃离心5~10min(如无低温离心机，室温下离心亦可)，取上清。
5. 进行后续的SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

(二)悬浮培养细胞

1. 取Enhanced RIPA Lysis Buffer室温溶解混匀，根据需要选择添加或不添加抑制剂。
2. 低速离心悬浮细胞，弃上清，收集沉淀。
3. 用手指轻弹细胞，使其松散。按照6孔板每孔细胞加入150~250 μ l裂解液的比例，加入Enhanced RIPA Lysis Buffer。通常6孔板每孔细胞加入150 μ l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200~250 μ l。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。
4. 10000~12000g，4℃离心5~10min(如无低温离心机，室温下离心亦可)，取上清。
5. 进行后续的SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

(三)组织样本

1. 取Enhanced Lysis Buffer置于室温溶解混匀，根据需要选择添加或不添加抑制剂。
2. 把组织剪切成细小的碎片，越小越好。取在液氮或超低温冰箱中冷冻30min以上的组织，迅速用液氮研磨，研磨过程尽量控制在1~2min之内，以减少蛋白的降解。
3. 按照每20mg组织加入150~250 μ l裂解液的比例加入含有PMSF的裂解液。冰上或4℃裂解15-30min。
4. 步骤3、4亦可以采用如下过程：按照每20mg组织加入150~250 μ l裂解液的比例加入含有PMSF的Enhanced RIPA Lysis Buffer。用玻璃匀浆器或组织研磨器匀浆，直至充分裂解，该过程尽量控制在1~2min之内，以减少蛋白的降解。



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

5. 10000~12000g, 4℃离心5~10min(如无低温离心机, 室温下离心亦可), 取上清。
6. 进行后续的PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

注意事项:

1. 去除贴壁细胞的培养液后, 如果血清中的蛋白没有干扰, 可以不用清洗。
2. 如果裂解不充分可以适当增加裂解液的用量, 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. 如果细胞量较多, 必需分装成50~100万细胞/离心管, 然后再裂解。大团的细胞较难裂解充分, 而少量的细胞由于裂解液容易和细胞充分接触, 相对比较容易裂解充分。
4. 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。
5. 溶解 乐业生物RIPA Lysis Buffer时, 应尽量缩短溶解时间, 避免有效成分失效。
6. 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-KB、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。
7. 细胞裂解的操作步骤, 应置于冰上或4℃进行。

有效期: 12个月有效。



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