

RIPA 裂解液(强)

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)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(Immunoprecipitation, IP)等。

Leagene Enhanced RIPA Lysis Buffer 主要由 Tris、NP-40、sodium deoxycholate 等组成, 并含有多种蛋白酶抑制剂成分, 可以有效抑制蛋白的降解, 并维持原有的蛋白间相互作用。该试剂仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称 \ 编号	PS0013	Storage
试剂(A): Enhanced RIPA Lysis Buffer	100ml	4°C
试剂(B): PMSF 溶液(100mM)	1.5ml	-20°C
使用说明书	1 份	

操作步骤(仅供参考):

配制含有 PMSF 的 Enhanced RIPA Lysis Buffer: 取 Enhanced RIPA Lysis Buffer 置于室温平衡, 加入 PMSF, 使其终浓度为 1mM, 临用前配制, 不可长期保存。

(一)贴壁细胞

- 1、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。
- 2、6 孔板每孔加入 150 ~ 250 μ l 含有 PMSF 的 Enhanced RIPA Lysis Buffer, 用手指轻弹细胞, 使其松散, 移液器轻轻吹打, 使裂解液和细胞充分接触, 置于冰上或 4°C 裂解, 通常裂解液作用于细胞 1 ~ 3s 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。
- 3、10000 ~ 12000g 4°C 离心 5 ~ 10min(如无低温离心机, 室温离心亦可), 取上清。
- 4、后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

(二)悬浮细胞

- 1、低速离心悬浮细胞, 弃上清, 用 PBS、NS 或无血清培养液清洗 1 次, 离心留取沉淀。
- 2、下同贴壁细胞 2 ~ 4 操作步骤。

(三)组织样本

- 1、组织剪碎，越小越好。
- 2、放置液氮或超低温冰箱中冷冻 30min，用液氮研磨，尽量控制在 1~2min 之内以减少蛋白的降解，每 20mg 组织加入 150~250 μ l 含有 PMSF 的 Enhanced RIPA Lysis Buffer，冰上或 4 $^{\circ}$ C 裂解 15~30min。
- 3、亦可按照每 20mg 组织加入 150~250 μ l 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 2~5min 之内，以减少蛋白的降解。
- 4、下同贴壁细胞 2~4 操作步骤。

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，直接裂解的优点是比较方便，不必使用匀浆器，缺点是不如使用匀浆器裂解的充分。
- 5、Enhanced RIPA Lysis Buffer 含有 Leagene 特殊成分，在低温情况下有可能出现浑浊现象，可 37 $^{\circ}$ C 水浴促其溶解，不影响使用效果；溶解时间不易过长，避免成分失效，4 度保存即可，长期不用亦可 -20 $^{\circ}$ C 保存。
- 6、PMSF 溶液可置 4 $^{\circ}$ C 保存 1~2 周，-20 $^{\circ}$ C 可保存 1 年以上，室温放置 2 天即可能失效。
- 7、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。
- 8、细胞裂解的操作步骤，应置于冰上或 4 $^{\circ}$ C 进行。
- 9、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期：12 个月有效；低温运输，按要求保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
PE0080	Tris-HCl 缓冲液(1mol/L,pH6.8)
DP0013	GUS 染色液(即用型)
PW0040	Western blot 一抗稀释液
TO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)

文献引用:

- 1、 Huang Xinmei,Zhang Shenghua,Tang Jingshu,et al.A Self-Propagating c-Met–SOX2 Axis Drives Cancer-Derived IgG Signaling That Promotes Lung Cancer Cell StemnessCANCER RESEARCH.June 2023.10.1158/0008-5472.CAN-22-2733.(IF 11.2)
- 2、 Huang Yongcai,Wang Haihai,Huang Xing,et al.Maize VKS1 Regulates Mitosis and Cytokinesis During Early Endosperm DevelopmentPLANT CELL.April 2019.10.1105/tpc.18.00966.(IF 8.631)
- 3、 Chunxue Fan,Dandan Zhang,Junling Zhang,et al.The effect of D-chiro-inositol on renal protection in diabetic miceAging-US.April 2022.10.18632/aging.204019.(IF 5.955)
- 4、 Xiang-Yu Chen,Ying-Xin Shi,Ya-Ping Huang,et al.SDF-1 inhibits the dedifferentiation of islet β cells in hyperglycaemia by up-regulating FoxO1 via binding to CXCR4JOURNAL OF CELLULAR AND MOLECULAR MEDICINE.December 2021.10.1111/jcmm.17110.(IF 5.31)
- 5、 Xue Zhang,Qiang Hu,Bo Jiang,et al.Role of Interleukin-21 in retinal ischemia-reperfusion injury: Unveiling the impact on retinal ganglion cell apoptosisINTERNATIONAL IMMUNOPHARMACOLOGY.January 2024.10.1016/j.intimp.2023.111480.(IF 4.8)
- 6、 Jie Li,Hui Lv,Yu-Qin Che,et al.Retraction: Upregulated microRNA-31 inhibits oxidative stress-induced neuronal injury through the JAK/STAT3 pathway by binding to PKD1 in mice with ischemic strokeJOURNAL OF CELLULAR PHYSIOLOGY.September 2019.10.1002/jcp.29146.(IF 4.522)
- 7、 Fan Chunxue,Liang Weishi,Wei Min,et al.Effects of D-Chiro-Inositol on Glucose Metabolism in db/db Mice and the Associated Underlying MechanismsFrontiers in Pharmacology.March 2020.10.3389/fphar.2020.00354.(IF 4.225)
- 8、 Dai Chen,Zhang Yan,Xu Zhihua,et al.MicroRNA-122-5p inhibits cell proliferation,migration and invasion by targeting CCNG1 in pancreatic ductal adenocarcinomaCancer Cell International.March 2020.10.1186/s12935-020-01185-z.(IF 4.175)
- 9、 Wang Haiyang,Feng Yumeng,Sun Jiaying,et al.Methyl-CpG-Binding Domain Protein 3 Promotes Seizures by Recruiting Methyltransferase DNMT1 to Enhance TREM2 MethylationNEUROCHEMICAL RESEARCH.June 2021.10.1007/s11064-021-03371-5.(IF 3.996)
- 10、 Li Jin,Wang Yuan,Zhang Cheng-Gong,et al.Effect of long non-coding RNA Gas5 on proliferation,migration,invasion and apoptosis of colorectal cancer HT-29 cell lineCancer Cell International.January 2018.10.1186/s12935-017-0478-7.(IF 3.96)
- 11、 Qi Hongqian,Wu Yingying,Zhang Weiyu,et al.The syntaxin-binding protein STXBP5 regulates progerin expressionScientific Reports.October 2024.10.1038/s41598-024-74621-z.(IF 3.8)
- 12、 Xiaohui Wan,Dongrui Guo,Qi Zhu,et al.microRNA-382 suppresses the progression of pancreatic cancer through the PI3K/Akt signaling pathway by inhibition of Anxa3AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-GASTROINTESTINAL AND LIVER PHYSIOLOGY.August 2020.10.1152/ajpgi.00322.2019.(IF 3.725)
- 13、 Hong-Quan Chen,Dong Gao,et al.Inhibitory effect of microRNA-154 targeting WHSC1 on cell proliferation of human skin squamous cell carcinoma through mediating the P53 signaling pathwayINTERNATIONAL JOURNAL OF BIOCHEMISTRY & CELL BIOLOGY.May 2018.10.1016/j.biocel.2018.04.021.(IF 3.247)
- 14、 Jian Zhao,Yan Gu,Peng Hou,et al.Protective Effect and Molecular Mechanism of Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles in Diabetic Foot UlcersCellular Reprogramming.November 2024.10.1089/cell.2024.0062.(IF 1.2)

注: 更多使用本产品的文献请参考产品网页