

RIPA 裂解液(强,无抑制剂)

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。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	PS0033	Storage
Enhanced RIPA Lysis Buffer Without Inhibitors		100ml	4°C
使用说明书		1 份	

操作步骤(仅供参考):

(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 Enhanced RIPA Lysis Buffer Without Inhibitors, 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 Enhanced RIPA Lysis Buffer Without Inhibitors, 冰上或 4°C 裂解 15 ~ 30min。
- 3、亦可按照每 20mg 组织加入 150 ~ 250 μ l Enhanced RIPA Lysis Buffer Without Inhibitors 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 Without Inhibitors 含有 Leagene 特殊成分，在低温情况下有可能出现浑浊现象，可 37°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°C 保存。
 - 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。
 - 7、细胞裂解的操作步骤，应置于冰上或 4°C 进行。
 - 8、添加 PMSF 等蛋白酶抑制剂，可有效避免蛋白的降解。
 - 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，4°C 保存。

文献引用：

- 1、Liu Dan, Yuan Liwei, Xu Fengjuan, et al. Interleukin-33 promotes intrauterine adhesion formation in mice through the mitogen-activated protein kinase signaling pathway. Communications Biology. August 2024. 10.1038/s42003-024-06709-1. (IF 5.2)

注：更多使用本产品的文献请参考产品网页

相关产品：

产品编号	产品名称
PE0003	TCEP 溶液(0.5M,pH6.8)
PE0018	SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒
PE0025	SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(5×,含 DTT)
PE0050	微量蛋白上样缓冲液(1/6×)
PE0080	Tris-HCl 缓冲液(1mol/L,pH6.8)
PE0093	Tris-甘氨酸电泳缓冲液(10×)
PE0103	Acr-Bis(30%,29:1)
PE0155	PAGE 胶凝固剂(APS,10%)
PE0157	PAGE 胶促凝剂
PE0295	非变性蛋白上样缓冲液(5×,含 DTT)
PE0300	双色 SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(5×,含 DTT)
PE0320	速溶型蛋白上样缓冲液(变性,还原型,5×)
PE0442	一步法 PAGE 凝胶快速制备试剂盒(10%)
PE0600	彩色预染蛋白分子量标准(10-180kD)
PI0012	苯甲基磺酰氟溶液(PMSF-AB,100mmol/L)
PI0015	蛋白酶抑制剂混合液(100×PIC)
PI0090	蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(10×)
PI0101	蛋白酶抑制剂混合液(100×,不含 EDTA)
PS0013	RIPA 裂解液(强)
PS0033	RIPA 裂解液(强,无抑制剂)
PS0055	全蛋白提取试剂盒
PS0080	植物 Western 及 IP 细胞裂解液
PS0215	植物种子蛋白提取试剂盒
PT0001	BCA 蛋白定量试剂盒
PT0015	考马斯亮蓝快速染色液(免脱色)
PT0027	蛋白快速银染试剂盒
PT0056	福林酚试剂(B,2M)
PT0102Y	即用型 BCA 蛋白定量试剂盒
PW0025	10×TBST 缓冲液(pH8.0)
PW0040	Western blot 一抗稀释液
PW0042	Western blot 一抗稀释液(无蛋白)
PW0056	WB 抗体快速剥离缓冲液(温和通用型)
PW0058	Western 洗涤液(10×)
PW0062	通用显影定影液套装
PW0097	醋酸纤维薄膜电泳透明液
PW0111	ECL Plus 化学发光液
PW0200	马血清
PW0300	膜再生液
PW0340	TBSTw(10X)(TBS with Tween-20,10X)
PW0402	免冰浴快速转膜缓冲液(10×)
PW0410	无蛋白快速封闭液(1×)
PW0422	通用型抗体稀释液(无蛋白)
PW0442	通用型封闭与抗体稀释液(无蛋白)
PW0600	Alcohol Resistant Marker(双头耐酒精记号笔, 黑色)