

RIPA 裂解液(强,无 PMSF)

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 即 Radio Immunoprecipitation Assay, 是一种传统的组织细胞快速裂解液。
RIPA 裂解液(强,无 PMSF)(Enhanced RIPA Lysis Buffer ,Without PMSF)裂解所得的蛋白样品可以用于常规的 Western 等实验, 主要成分是: 50mM Tris(pH 7.6)、150mM NaCl、1% TritonX-100、0.5% sodiumdeoxycholate、0.1% SDS 等多种裂解剂和抑制剂。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	PS0034	Storage
Enhanced RIPA Lysis Buffer Without PMSF		100ml	4°C
使用说明书		1 份	

操作步骤(仅供参考):

1. 取适当量的 RIPA Lysis Buffer, 在使用前数分钟内加入 PMSF(自备), 使 PMSF 的最终浓度为 1mM。

注意: 本品不含蛋白酶等抑制剂, 根据需要在 使用前添加蛋白酶、磷酸酶等抑制剂。

2. 样品前处理

(a)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 6 孔板每孔加入 150-250ul 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, 然后转移至离心管中。

(b)对于悬浮细胞: 离心收集细胞, 用手指把细胞用力弹散。按照 6 孔板每孔细胞加入 150-250ul 裂解液的比例加入裂解液。再用手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, 必需分成 50-100 万细胞/管, 然后再裂解。

(c)对于组织样品: 把组织剪切成细小的碎片, 按照每 20mg 组织加入 150-250ul 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), 用玻璃匀浆器匀浆, 直至充分裂解。

3. 上述样品转移至冰上, 裂解 30 分钟, 中间 15 分钟后补加一次终浓度 1mM PMSF。充分裂解后, 10000-14000g 离心 3-5 分钟, 取上清, 即可进行后续的 PAGE、Western 和免疫沉淀等操作。

注意事项:

- 1、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 NFκB、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。
- 2、蛋白裂解的所有步骤都需在冰上或 4°C 进行。

- 3、添加 PMSF 等蛋白酶抑制剂，可有效避免蛋白的降解。PMSF 应现用现加。亦可添加其他类型的蛋白酶抑制剂混合物(PI0101)。
- 4、为获得最佳的实验效果，可适当分装使用，以尽量避免反复冻融。
- 5、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。
- 6、蛋白酶抑制剂均有较高的毒性，为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。一旦直接接触，请立即用流水冲洗，如有必要则向医疗机构咨询。

有效期：12 个月有效；室温运输，4℃保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
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×)
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
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)
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)
PW0111	ECL Plus 化学发光液
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)