

Biolinkedin® RIPA 裂解液 (强)

包装清单

名称	货号	包装
RIPA 裂解液 (强)	L-7103	100mL

产品概述

Biolinkedin® RIPA 裂解液(强)是一种传统的细胞组织快速裂解液。RIPA 裂解液(强)适用于常规的 PAGE、Western、免疫沉淀(immunoprecipitation, IP)、免疫共沉淀(co-IP)和 ELISA 等。本产品可以用于动物、植物的细胞或组织样品,也可以用于真菌或细菌样品。

RIPA 裂解液(强)的主要成分为 Tris (pH 7.4), NaCl, Triton X-100, sodium deoxycholate, SDS, 以及 sodium orthovanadate, sodium fluoride, leupeptin 以及 EDTA。为防止蛋白降解,建议添加 PMSF、蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂。

保存条件

-20°C保存,有效期一年。

操作流程

(一) 培养细胞样品

1. 取适量的裂解液,在使用前数分钟内加入 PMSF,使 PMSF 的最终浓度为 1mM,或者根据实验需要加入适当的蛋白酶/磷酸酶抑制剂。

2. 裂解

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 150~250 μ L 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。通常裂解液接触动物细胞 1~2s 后,细胞就会被裂解。植物细胞宜在冰上裂解 2~10min。

悬浮细胞: 离心收集细胞,轻轻弹击 EP 管底以把细胞尽量分散开。按照 6 孔板每孔细胞加入 150~250 μ L 裂解液的比例加入裂解液。轻弹 EP 管底以充分裂解细胞。充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。如果细胞量较多,必需分装成 50~100 万细胞/管,然后再裂解。

细菌或酵母: 对于 1mL 菌液或酵母液,离心去上清,如果有必要可以使用 PBS 洗涤一次,充分去除液体后,轻轻弹击 EP 管底以把细菌或酵母尽量弹散。加入 100~200 μ L 裂解液,轻轻弹击 EP 管底以混匀,冰上裂解 2~10min。如果希望获得更好的裂解效果,细菌和酵母可以分别使用溶菌酶和破壁酶(Lyticase)消化,然后再使用本裂解液进行裂解。

裂解液用量说明: 通常 6 孔板每孔细胞或者 1mL 的菌液或酵母液中的细菌和酵母量加入 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 μ L 或 250 μ L。每 100 万动物细胞用 100 μ L 本产品裂解后获得的上清,其蛋白浓度约为 2~4mg/ml,不同细胞有所不同。

3. 充分裂解后,10000~14000g 离心 3~5min,取上清,即可进行后续的 PAGE、Western 和免疫沉淀等操作。

(二) 组织样品

1. 把组织剪切成细小的碎片。

2. 取适量的裂解液,在使用前数分钟内加入 PMSF,使 PMSF 的最终浓度为 1mM,或者根据实验需要加入适当的蛋白酶/磷酸酶抑制剂。

3. 按照每 20mg 组织加入 150~250 μ L 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。)

4. 用玻璃匀浆器匀浆,或使用我司手持均质仪研磨,直至充分裂解。也可以把组织样品冷冻后液氮研磨,研磨充分后加入裂解液进行裂解。

5. 充分裂解后,10000~14000g 离心 3~5min,取上清,即可进行后续的 PAGE、Western 和免疫沉淀等操作。

6. 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,通过强烈涡旋使样品裂解充分。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,不必使用匀浆器或研磨设备,缺点是不如匀浆或研磨那样裂解得比较充分。

注: RIPA 裂解液(强)的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-kappaB、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。

注意事项

1. 进行实验操作之前,请务必认真阅读本操作说明书。
2. 本产品仅供科学研究使用。
3. 为取得最佳的使用效果,尽量避免过多的反复冻融。可以适当分装后使用。
4. 需自备 PMSF、蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂等。如果无需检测磷酸化蛋白,也可以不加入磷酸酶抑制剂。
5. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4°C 进行。

相关产品

货号	产品名称
L-7101	IP Lysis/Wash buffer
L-7102	蛋白上样缓冲液 (5X)
L-7103	RIPA 裂解液 (强)
L-7104	蛋白酶抑制剂 Cocktail (100X)
L-7105	蛋白快速染色液