

天
净
沙
系
列

CAT#:131008-100
常温运输和保存

TIANDZ

RIPA 裂解液（弱）

RIPA Lysis Buffer (W)

使用手册 V1.0

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506
网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

<p>产品及特点</p>	<p>RIPA (Radio Immunoprecipitation Assay) 裂解液是一种传统的细胞组织快速裂解液。RIPA 裂解液裂解得到的蛋白样品可以用于常规的 Western、IP 等实验。本产品裂解能力强度温和，对膜蛋白的处理能力一般；对核蛋白的提取能力较好；对胞浆蛋白、胞浆磷酸化蛋白和各种转录因子处理效果很好。本产品含有各种蛋白酶和磷酸蛋白酶抑制剂，能有效防止各种蛋白酶对目的蛋白的降解。我公司各种 RIPA 裂解液产品特点见下表：</p> <table border="1" data-bbox="478 604 1412 1400"> <thead> <tr> <th>产品名称</th> <th>RIPA 裂解液 (强)</th> <th>RIPA 裂解液 (中)</th> <th>RIPA 裂解液 (弱)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>有效裂解成分</td> <td>1% Triton X-100, 1% deoxycholate, 0.1% SDS</td> <td>1% NP-40, 0.5% deoxycholate, 0.1% SDS</td> <td>1% NP-40, 0.25% deoxycholate</td> </tr> <tr> <td>裂解强度</td> <td>强</td> <td>中</td> <td>温和</td> </tr> <tr> <td>对膜蛋白的提取</td> <td>很好</td> <td>较好</td> <td>一般</td> </tr> <tr> <td>对胞浆蛋白的提取</td> <td>很好</td> <td>很好</td> <td>很好</td> </tr> <tr> <td>对核蛋白的提取</td> <td>很好</td> <td>较好</td> <td>较好</td> </tr> <tr> <td>胞浆磷酸化蛋白提取</td> <td>很好</td> <td>很好</td> <td>很好</td> </tr> <tr> <td>细胞核转录因子提取</td> <td>很好</td> <td>很好</td> <td>很好</td> </tr> <tr> <td>含蛋白酶抑制剂</td> <td>是</td> <td>是</td> <td>是</td> </tr> <tr> <td>含磷酸酯酶抑制剂</td> <td>是</td> <td>是</td> <td>是</td> </tr> <tr> <td>主要用途</td> <td>WB, IP</td> <td>WB, IP</td> <td>WB, IP, co-IP</td> </tr> </tbody> </table>			产品名称	RIPA 裂解液 (强)	RIPA 裂解液 (中)	RIPA 裂解液 (弱)	有效裂解成分	1% Triton X-100, 1% deoxycholate, 0.1% SDS	1% NP-40, 0.5% deoxycholate, 0.1% SDS	1% NP-40, 0.25% deoxycholate	裂解强度	强	中	温和	对膜蛋白的提取	很好	较好	一般	对胞浆蛋白的提取	很好	很好	很好	对核蛋白的提取	很好	较好	较好	胞浆磷酸化蛋白提取	很好	很好	很好	细胞核转录因子提取	很好	很好	很好	含蛋白酶抑制剂	是	是	是	含磷酸酯酶抑制剂	是	是	是	主要用途	WB, IP	WB, IP	WB, IP, co-IP
产品名称	RIPA 裂解液 (强)	RIPA 裂解液 (中)	RIPA 裂解液 (弱)																																												
有效裂解成分	1% Triton X-100, 1% deoxycholate, 0.1% SDS	1% NP-40, 0.5% deoxycholate, 0.1% SDS	1% NP-40, 0.25% deoxycholate																																												
裂解强度	强	中	温和																																												
对膜蛋白的提取	很好	较好	一般																																												
对胞浆蛋白的提取	很好	很好	很好																																												
对核蛋白的提取	很好	较好	较好																																												
胞浆磷酸化蛋白提取	很好	很好	很好																																												
细胞核转录因子提取	很好	很好	很好																																												
含蛋白酶抑制剂	是	是	是																																												
含磷酸酯酶抑制剂	是	是	是																																												
主要用途	WB, IP	WB, IP	WB, IP, co-IP																																												
<p>规格及成分</p>		<table border="1"> <tr> <td>成 份</td> <td>100 mL 包装</td> </tr> <tr> <td>本产品</td> <td>100 mL</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>1 份</td> </tr> </table>	成 份	100 mL 包装	本产品	100 mL	使用手册	1 份																																							
成 份	100 mL 包装																																														
本产品	100 mL																																														
使用手册	1 份																																														
<p>运输及保存</p>	<p>常温运输和保存，有效期一年。</p>																																														
<p>自备试剂</p>	<p>PMSF</p>																																														
<p>使用方法</p>	<p>对于培养细胞样品：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 融解 RIPA 裂解液，混匀。取适当量的裂解液，在使用前数分钟内加入 PMSF，使 PMSF 的最终浓度为 1mM。 2. 裂解细胞 																																														

2.1 **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 150-250 微升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。

2.2 **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 150-250 微升裂解液的比例加入裂解液。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。如果细胞量较多, 必需分装成 50-100 万细胞/管, 然后再裂解。

3. 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: 通常 6 孔板每孔细胞加入 150 微升裂解液已经足够, 但如果细胞密度非常高可以适当加大裂解液的用量到 200 微升或 250 微升。

对于组织样品:

1. 把组织剪切成细小的碎片。

2. 融解 RIPA 裂解液, 混匀。取适当量的裂解液, 在使用前数分钟内加入 PMSF, 使 PMSF 的最终浓度为 1mM。

3. 按照每 20 毫克组织加入 150-250 微升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, 直至充分裂解。

5. 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。

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 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那样裂解得比较充分。

注: RIPA 裂解液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。
备注	<ol style="list-style-type: none"> 1. 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。 2. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4℃进行。 3. 用 RIPA 裂解液裂解得到的蛋白样品，建议使用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒，不建议使用 Bradford 法测定由本裂解液裂解得到样品的蛋白浓度。
关联产品	<p>RIPA 裂解液（中）（产品编号：131007）</p> <p>RIPA 裂解液（强）（产品编号：131006）</p> <p>BCA 法蛋白定量试剂盒（产品编号：80815）</p> <p>超敏型 BCA 法蛋白定量试剂盒（产品编号：80816）</p>