

RIPA 裂解液 (RIPA Lysis Buffer)

KP302 100毫升

试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	KP302
100 ml RIPA 裂解缓冲液	4°C	100ml

本试剂盒在所需温度内储存 12 个月不影响使用效果。

产品介绍:

紫色 RIPA 裂解液(RIPA Lysis Buffer)对动物细胞胞膜、胞浆、胞核成分均有较强裂解作用,是经典和最常用的细胞组织快速裂解液。使用 RIPA 裂解缓冲液制备用于 Western 特别是用于免疫共沉淀的裂解产物已经是一种首选的标准操作,也适用于大部分抗原表位检测,特别是免疫共沉淀等实验。

裂解液组成成分:

50 mM Tris-HCl (pH 7.4), 150 mM NaCl, 1% NP-40, 0.1% SDS.

操作步骤:

1. 制备细胞裂解产物:
 - a. 收集培养细胞,估计细胞离心后的体积(PCV, 10^6 cells=20 ul, 10^7 cells =100 ul PCV)。800g 4°C离心 5 分钟。
 - b. 每 50~100 ul PCV 加入 5 倍体积 RIPA 裂解缓冲液(250~500 ul),冰浴放置 10 分钟,并每隔 5 分钟在漩涡混合仪上振荡 30 秒。
 - c. 12000g 4°C离心 10 分钟,将上清转移到新的离心管中,即得细胞总蛋白产物。

注意:如所得蛋白产物较为粘稠,可先 95°C加热 5 分钟,迅速冰浴 5 分钟,再进行步骤 C。

2. 制备组织裂解产物:

- a. 取 50-100 mg 组织在冰上剪成碎片，用预冷的 PBS 洗涤 2 次离心后弃去 PBS。
- b. 加入 0.5-1 ml 预冷 RIPA 裂解缓冲液。
- c. 4°C用玻璃匀浆器匀浆 20-40 次，直到 95%的细胞被破碎。
- d. 然后在冰浴中放置 10 分钟，并每隔 5 分钟在漩涡混合仪上振荡 30 秒。
- e. 12000g 4°C离心 10 分钟，将上清转移到新的离心管中，即得组织总蛋白产物。

注意：如所得蛋白产物较为粘稠，可先 95°C加热 5 分钟，迅速冰浴 5 分钟，再进行步骤 e 。

说明： 1.转移上清液时不要吸入底部的沉淀物； 2. 在做免疫沉淀或免疫共沉淀时最好在实验前进行蛋白提取，避免某些不稳定蛋白的降解； 3. RIPA 裂解缓冲液中未加入蛋白酶抑制剂，用户可自行选择添加。