

RIPA 裂解液 (强, 无抑制剂)

Enhanced RIPA lysis buffer (without inhibitors)



产品货号: R6166

产品规格: 100 mL

储存条件: 4°C保存, 有效期见外包装

产品介绍

RIPA 裂解液 (强, 无抑制剂) 可用于裂解细胞/组织, 有效提取细胞质、细胞膜及细胞核蛋白, 获得的蛋白样品可用于常规的蛋白分析, 如 Western Blot、IP 等。本产品的主要成分为 100 mM Tris-HCl (pH 8.0)、150 mM NaCl、1% Triton X-100、1% deoxycholic acid、0.1% SDS 等。

UElandy 提供的另外一款 Western 及 IP 细胞裂解液 (W6001), 其有效裂解成分为 1% NP-40。相较于 RIPA 裂解液 (强, 无抑制剂), 其裂解能力相对较弱, 但能够满足一般用户需求。遇到某些难溶解蛋白的 Western, 若发现 Western 及 IP 细胞裂解液效果不是非常理想, 可以尝试使用裂解强度更高的 RIPA 裂解液 (强, 无抑制剂) (R6166)。

以贴壁细胞 (6 孔板) 举例, 每孔 200 μL RIPA 裂解液, 100 mL 试剂大概可以用于 500 个孔。

实验步骤

1. 取适当量的 RIPA 裂解液, 在使用前数分钟根据需要加入蛋白酶或磷酸酶抑制剂, 并在冰上预冷。

注: 蛋白酶抑制剂或磷酸酶抑制剂需另行购买, Uelandy 可提供蛋白酶抑制剂 (P6163)、磷酸酶抑制剂 (P6164)。

2. 裂解细胞 (在冰上操作)

(1) 对于细胞样品:

贴壁细胞:

- 去除培养基, 用预冷的 1×PBS 清洗 2 遍。
- 去上清, 加入 200 μL 预冷后的 RIPA 裂解液 (6 孔板), 混匀, 冰浴 5 min。
- 充分裂解后, 收集裂解液。
- 14000×g 离心 5 min, 取上清用于进一步实验。

悬浮细胞:

- 收集细胞, 1500 rpm 离心 3 min。
- 去上清, 并用预冷的 1×PBS 清洗, 1500 rpm 离心 3 min, 重复 2 遍。
- 去上清, 加入 200 μL 预冷后的 RIPA 裂解液 (1×10^6 cells/管), 混匀, 冰浴 5 min。
- 充分裂解后, 14000×g 离心 5 min, 取上清用于进一步实验。

(2) 对于组织样品:

- 将组织剪成小块, 并称重。
- 加入 200 μL 预冷后的 RIPA 裂解液 (20 mg 组织), 用匀浆器进行匀浆。
- 冰浴 5 min, 充分裂解细胞。



UElandy Inc.
Tel: 0512-88965152
Web: www.uelandy.com

d. 14000×g离心5 min, 取上清用于进一步实验。

注意事项

1. RIPA裂解液（强，无抑制剂）含有较高浓度的去垢剂，因此与Bradford法测定蛋白浓度不兼容，如需测定蛋白浓度可选本公司生产的BCA蛋白定量检测试剂盒（B6167）。
2. RIPA裂解液（强，无抑制剂）不含有蛋白酶或其他酶的抑制剂，使用前请根据实验需求加入酶抑制剂，以防蛋白降解。
3. 裂解过程需在冰上进行。
4. 以HeLa细胞为例， 1×10^6 cells需要200 μL预冷的RIPA裂解液，该裂解液的量相对较充足，在有限细胞的情况下，如需提高蛋白浓度，可适当减少裂解液的量。
5. 裂解产物中如若出现的一小团透明胶状物，属于正常现象，是含有基因组DNA的复合物。

