

RIPA 裂解液(强中弱套装)

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 裂解液(强)(Enhanced RIPA Lysis Buffer)是采用一种经典的细胞组织快速裂解, 并获得总蛋白的裂解液, 其裂解强度大于 NP-40 裂解液、RIPA 裂解液(中), 所获得的蛋白质可以用于 Western, 免疫沉淀(Immunoprecipitation, IP)等。

Leagene RIPA 裂解液(强中弱套装)主要由 Tris、NP-40、sodium deoxycholate 等组成, 并含有多种蛋白酶抑制剂成分, 可以有效抑制蛋白的降解, 并维持原有的蛋白间相互作用。本产品由 RIPA 裂解液(强)、RIPA 裂解液(中)和 RIPA 裂解液(弱)三组部分组成, 便于实验时探索不同的实验条件。用 RIPA 裂解液裂解得到的蛋白样品, 可以用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度。由于含有较高浓度的去垢剂, 不能用 Bradford 法测定由本裂解液裂解得到样品的蛋白浓度。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	PS0020 3×50ml	Storage
试剂(A): Enhanced RIPA Lysis Buffer	50ml	4°C
试剂(B): Medium RIPA Lysis Buffer	50ml	4°C
试剂(C): Weak RIPA Lysis Buffer	50ml	4°C
试剂(D): PMSF 溶液(100mM)	1.5ml	-20°C
使用说明书	1 份	

操作步骤(仅供参考):

配制含有 PMSF 的 RIPA Lysis Buffer: 取 RIPA Lysis Buffer 置于室温平衡, 加入 PMSF, 使其终浓度为 1mM, 临用前配制, 不可长期保存。

(一)贴壁细胞

- 1、去除贴壁细胞的培养液, 用 PBS、NS 或无血清培养液清洗 1 次, 低速离心, 弃上清, 留取沉淀。
- 2、6 孔板每孔加入 150 ~ 250 μ l 含有 PMSF 的 RIPA Lysis Buffer, 用手指轻弹细胞, 使其松散, 移液器轻轻吹打, 使裂解液和细胞充分接触, 置于冰上或 4°C 裂解, 通常裂解液作用于细胞 1 ~ 3s 内细胞就会被裂解, 通常 6 孔板每孔细胞加入 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 ~ 250 μ l。

- 3、10000 ~ 12000g 4℃离心 5 ~ 10min(如无低温离心机, 室温离心亦可), 取上清。
- 4、后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

(二) 悬浮细胞

- 1、低速离心悬浮细胞, 弃上清, 用 PBS、NS 或无血清培养液清洗 1 次, 离心留取沉淀。
- 2、下同贴壁细胞 2 ~ 4 操作步骤。

(三) 组织样本

- 1、组织剪碎, 越小越好。
- 2、放置液氮或超低温冰箱中冷冻 30min, 用液氮研磨, 尽量控制在 1 ~ 2min 之内以减少蛋白的降解, 每 20mg 组织加入 150 ~ 250μl 含有 PMSF 的 RIPA Lysis Buffer, 冰上或 4℃裂解 15 ~ 30min。
- 3、亦可按照每 20mg 组织加入 150 ~ 250μl 含有 PMSF 的 RIPA Lysis Buffer 用玻璃匀浆器或组织研磨器匀浆, 直至充分裂解, 该过程尽量控制在 2 ~ 5min 之内, 以减少蛋白的降解。
- 4、下同贴壁细胞 2 ~ 4 操作步骤。

注意事项:

- 1、去除贴壁细胞的培养液后, 如果血清中的蛋白没有干扰, 可以不用清洗。
- 2、如果裂解不充分可以适当增加裂解液的用量, 如果需要高浓度的蛋白样品, 可以适当减少裂解液的用量。
- 3、如果细胞量较多, 必需分装成 50 ~ 100 万细胞/离心管, 然后再裂解, 大团的细胞较难裂解充分, 而少量的细胞由于裂解液容易和细胞充分接触, 相对比较容易裂解充分。
- 4、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裂解的充分。
- 5、Enhanced RIPA Lysis Buffer 含有 Leagene 特殊成分, 在低温情况下有可能出现浑浊现象, 可 37℃水浴促其溶解, 不影响使用效果; 溶解时间不易过长, 避免成分失效, 4 度保存即可, 长期不用亦可 -20℃保存。
- 6、PMSF 溶液可置 4℃保存 1 ~ 2 周, -20℃可保存 1 年以上, 室温放置 2 天即可能失效。
- 7、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。
- 8、细胞裂解的操作步骤, 应置于冰上或 4℃进行。
- 9、用于普通的 Western、IP 或 co-IP, 我们推荐使用 Western 及 IP 细胞裂解液, 该裂解

- 液已被国内各大研究机构广泛使用，发表大量 SCI 论文，用户普遍反映很好。裂解细胞或组织后，没有非常粘滞的透明状 DNA 团块形成，不必采用超声处理等就可以非常理想地用于后续操作。另外该裂解液裂解的产物也适合用于磷酸化蛋白的 Western 检测。
- 10、对于某些特殊蛋白的 IP，如果发现 Western 及 IP 细胞裂解液效果不是非常理想，可以尝试用 RIPA 裂解液(强、中或弱)或 NP-40 裂解液。如果发现 IP 的时候背景很高，即非特异的蛋白也被 IP 下来，则需要选用裂解强度较高的裂解液，例如 RIPA 裂解液(强或中)。如果发现目的蛋白无法被 IP 下来，则说明裂解液的强度过强，可以使用较为温和的裂解液例如 RIPA 裂解液(弱)或 NP-40 裂解液。
- 11、对于某些难溶解蛋白的 Western，如果发现 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裂解液例如 RIPA 裂解液(强、中)或 SDS 裂解液。使用 RIPA 裂解液(强)的用户也非常多，发表了大量 SCI 论文。
- 12、用于特定用途需要自行添加特定抑制剂或不需要添加抑制剂时，可以考虑选购 PS0029 或 PS0033。PS0029 在很多时候可以兼容酶活性和生物小分子的检测，对于特定的酶或生物小分子的检测是否兼容需要自行测试。PS0029 的裂解能力比 PS0033 弱一些，但用于酶活性和生物小分子时，PS0029 的兼容性通常会更好一些。
- 13、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期：12 个月有效；低温运输，按要求保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
PE0080	Tris-HCl 缓冲液(1mol/L,pH6.8)
DP0013	GUS 染色液(即用型)
PS0009	Western 及 IP 细胞裂解液
PS0033	RIPA 裂解液(强,无抑制剂)
PT0001	BCA 蛋白定量试剂盒
PT0002	Bradford 蛋白定量试剂盒
PT0055	福林酚试剂(B,1M)
PW0040	Western blot 一抗稀释液
TO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)

文献引用:

- 1、 Huang Xinmei,Zhang Shenghua,Tang Jingshu,et al.A Self-Propagating c-Met–SOX2 Axis Drives Cancer-Derived IgG Signaling That Promotes Lung Cancer Cell StemnessCANCER RESEARCH.June 2023.10.1158/0008-5472.CAN-22-2733.(IF 11.2)
- 2、 Huang Yongcai,Wang Haihai,Huang Xing,et al.Maize VKS1 Regulates Mitosis and Cytokinesis During Early Endosperm DevelopmentPLANT CELL.April 2019.10.1105/tpc.18.00966.(IF 8.631)
- 3、 Chunxue Fan,Dandan Zhang,Junling Zhang,et al.The effect of D-chiro-inositol on renal protection in diabetic miceAging-US.April 2022.10.18632/aging.204019.(IF 5.955)
- 4、 Xiang-Yu Chen,Ying-Xin Shi,Ya-Ping Huang,et al.SDF-1 inhibits the dedifferentiation of islet β cells in hyperglycaemia by up-regulating FoxO1 via binding to CXCR4JOURNAL OF CELLULAR AND MOLECULAR MEDICINE.December 2021.10.1111/jcmm.17110.(IF 5.31)
- 5、 Xue Zhang,Qiang Hu,Bo Jiang,et al.Role of Interleukin-21 in retinal ischemia-reperfusion injury: Unveiling the impact on retinal ganglion cell apoptosisINTERNATIONAL IMMUNOPHARMACOLOGY.January 2024.10.1016/j.intimp.2023.111480.(IF 4.8)
- 6、 Jie Li,Hui Lv,Yu-Qin Che,et al.Retraction: Upregulated microRNA-31 inhibits oxidative stress-induced neuronal injury through the JAK/STAT3 pathway by binding to PKD1 in mice with ischemic strokeJOURNAL OF CELLULAR PHYSIOLOGY.September 2019.10.1002/jcp.29146.(IF 4.522)
- 7、 Fan Chunxue,Liang Weishi,Wei Min,et al.Effects of D-Chiro-Inositol on Glucose Metabolism in db/db Mice and the Associated Underlying MechanismsFrontiers in Pharmacology.March 2020.10.3389/fphar.2020.00354.(IF 4.225)
- 8、 Dai Chen,Zhang Yan,Xu Zhihua,et al.MicroRNA-122-5p inhibits cell proliferation,migration and invasion by targeting CCNG1 in pancreatic ductal adenocarcinomaCancer Cell International.March 2020.10.1186/s12935-020-01185-z.(IF 4.175)
- 9、 Wang Haiyang,Feng Yumeng,Sun Jiaying,et al.Methyl-CpG-Binding Domain Protein 3 Promotes Seizures by Recruiting Methyltransferase DNMT1 to Enhance TREM2 MethylationNEUROCHEMICAL RESEARCH.June 2021.10.1007/s11064-021-03371-5.(IF 3.996)
- 10、 Li Jin,Wang Yuan,Zhang Cheng-Gong,et al.Effect of long non-coding RNA Gas5 on proliferation,migration,invasion and apoptosis of colorectal cancer HT-29 cell lineCancer Cell International.January 2018.10.1186/s12935-017-0478-7.(IF 3.96)
- 11、 Qi Hongqian,Wu Yingying,Zhang Weiyu,et al.The syntaxin-binding protein STXBP5 regulates progerin expressionScientific Reports.October 2024.10.1038/s41598-024-74621-z.(IF 3.8)

注：更多使用本产品的文献请参考产品网页