

RIPA 裂解液(弱)

产品简介:

多种成分均可从细胞中提取总蛋白,如 Triton、SDS、NP-40 等,RIPA 裂解液(弱) (Weak RIPA Lysis Buffer)是采用一种较温和的获得总蛋白的裂解方法,所获得的蛋白质可用于 PAGE 电泳、Western、免疫沉淀(Immunol Precipitation, IP)和免疫共沉淀(co-IP)等。

Leagene Weak RIPA Lysis Buffer 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。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	PS0011	Storage
试剂(A): Weak RIPA Lysis Buffer		100ml	4°C
试剂(B): 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 Weak RIPA Lysis Buffer: 取 Weak 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 Weak 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°C 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 ~ 250 μ l 含有 PMSF 的 Weak RIPA Lysis Buffer, 冰上或 4 $^{\circ}$ C 裂解 15 ~ 30min。

- 3、亦可按照每 20mg 组织加入 150 ~ 250 μ l 含有 PMSF 的 Weak RIPA Lysis Buffer, 用玻璃匀浆器或组织研磨器匀浆, 直至充分裂解, 该过程控制在 2 ~ 5min 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、Weak 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 $^{\circ}$ C 水浴促其溶解, 不会影响使用效果; 溶解时间不易过长, 避免成分失效, 4 $^{\circ}$ C 保存即可, 长期不用亦可 -20 $^{\circ}$ C 保存。
- 6、PMSF 溶液可置 4 $^{\circ}$ C 保存 1~2 周, -20 $^{\circ}$ C 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 $^{\circ}$ C 进行。
- 9、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)
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、 Zhiqiang Xie, Yuchen Yang, Zhenghua Wang, et al. Dithioethanol (DTE)-Conjugated Deoxyribose Cyclic Dinucleotide Prodrugs (DTE-dCDNs) as STING Agonist. INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES. December 2023. 10.3390/ijms25010086. (IF 5.6)

注: 更多使用本产品的文献请参考产品网页