

Product Data Sheet

Product Name: RIPA Lysis Buffer (Weak)

Cat. No.: GK10025

Components

Catalog No.	Components	100 mL	Storage
GK10025-R	RIPA Lysis Buffer (Weak)	100 mL	-20°C
GK10025-P	PMSF (100mM)	1 mL	-20°C
Stored at -20°C, and is stable for up to 12 months.			

Protocol

1. 细胞样品：

(1) 融解RIPA Lysis Buffer，混匀。取适当量的裂解液，在使用前加入PMSF，使PMSF的最终浓度为1mM。可根据实验需要加入适当的上述蛋白酶磷酸酶抑制剂Cocktails。

(a) 贴壁细胞：弃培养液，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 uL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(一般情况下裂解液接触动物细胞1-2s后，细胞就会被裂解)。植物细胞宜在冰上裂解2-10 min。

(b) 悬浮细胞：离心收集细胞，轻轻涡旋或者弹击管底使细胞尽量分散。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。轻弹管底以便充分裂解细胞。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。大团的细胞较难裂解充分，而少量的细胞由于裂解液易和细胞充分接触，相对比较容易裂解充分。

(c) 细菌或酵母：取1 mL菌液或酵母液，离心去上清(或可使用PBS洗涤一次，充分去除液体)，轻轻涡旋或者弹击管底把细菌或酵母尽量分散。加入100-200 uL裂解液，轻轻涡旋或者弹击管底以混匀，冰上裂解2-10min(如果希望获得更好的裂解效果，细菌和酵母可以分别使用溶菌酶和破壁酶(Lyticase)消化，然后再使用本裂解液进行裂解)。

(2) 充分裂解后，10000-14000g离心3-5 min，取上清，即可进行后续的PAGE、WB和IP等操作。

2. 组织样品：

(1) 把组织剪切成细小的碎片。

(2) 融解RIPA Lysis Buffer (Weak)，混匀。取适当量的裂解液，在使用前加入PMSF，使PMSF的最终浓度为1mM。可根据实验需要加入适当的上述蛋白酶磷酸酶抑制剂Cocktails。

(3) 按照每20 mg组织加入150-250 uL裂解液的比例加入裂解液。(若裂解不充分可适当增加裂解液用量，如果需要高浓度蛋白样品，可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。或把组织样品冷冻后液氮研磨，研磨充分后加入裂解液进行裂解。

Caution: Product has not been fully validated for medical applications. For research use only.

Tel: (626) 353-8530 Fax: (626) 353-8530 E-mail: tech@glpbio.com

Address: 10292 Central Ave. #205, Montclair, CA, USA

Product Data Sheet

(5)充分裂解后, 10000-14000g离心3-5min, 取上清, 即可进行后续的PAGE、WB和IP等操作。

注意事项

(1)裂解液用量说明: 通常6孔板每孔细胞或者1 mL的菌液或酵母液中的细菌和酵母量加入150 uL裂解液已足够, 若细胞密度非常高可以适当加大裂解液的用量到200 uL或250 uL。每100万动物细胞用100 uL本产品裂解后获得的上清, 其蛋白浓度约为2-4 mg/mL, 不同细胞有所不同。

(2)每20mg冻存的小鼠肝脏组织用200 uL本裂解液裂解后获得的上清, 其蛋白浓度约为15-25mg/mL, 不同状态的不同组织有所不同。

(3)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, 通过强烈涡旋使样品裂解充分。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, 不必使用匀浆器或研磨设备, 缺点是不如匀浆或研磨那样裂解比较充分。

(4)RIPA裂解液的裂解产物中经常会出现一小团透明胶状物, 该透明胶状物为含有基因组DNA等的复合物, 是正常现象。在不检测和基因组DNA紧密结合的蛋白情况下, 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紧密结合的蛋白, 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, 如NF-kappaB、p53等时, 通常不必进行超声处理, 即可检测到这些转录因子。

(5)为取得最佳的使用效果, 建议适当分装后使用尽量避免反复冻融。

(6)裂解样品的所有步骤都需在冰上或4°C进行。

Background

RIPA Lysis Buffer (Weak)(RIPA裂解液(弱))是一种常用的细胞组织快速裂解液, 在非变性条件下裂解细胞或组织样品, 从而制备蛋白样品。该产品的主要成分为50mM Tris(pH7.4)、150mM NaCl、1% NP-40(乙基苯基聚乙二醇)、0.25% sodium deoxycholate(脱氧胆酸钠), 以及sodium orthovanadate(正钒酸钠)、sodium fluoride(亚氟酸钠)、EDTA、leupeptin等多种抑制剂, 可有效抑制蛋白的降解, 维持原有蛋白间的相互作用。RIPA Lysis Buffer (Weak)裂解得到的蛋白样品可以用于常规的PAGE、蛋白质免疫印迹(WB)、免疫沉淀(IP)和免疫共沉淀(co-IP)等。本产品可用于动物、植物的细胞或组织样品, 也可以用于真菌或细菌样品。

Caution: Product has not been fully validated for medical applications. For research use only.

Tel: (626) 353-8530 Fax: (626) 353-8530 E-mail: tech@glpbio.com

Address: 10292 Central Ave. #205, Montclair, CA, USA