



高效 RIPA 组织/细胞裂解液使用说明书

货号: R0010

规格: 20ml/100ml

本产品配有一支 PMSF (0.3ml/1.5ml)

保存: RIPA 裂解液 2-8°C保存, PMSF-20 °C保存。

使用说明 (仅供参考):

如发现 RIPA 有沉淀, 请放室温半小时或者常温水浴使沉淀溶解。

根据使用量, 取每 1ml RIPA 加入 10ul PMSF, 使 PMSF 的最终浓度为 1mM。混匀备用 (PMSF 现用现加)。样本裂解均需要冰上或低温操作, 裂解时间 20-30 分钟。

1、样品前处理:

a)对于贴壁细胞: 去除培养液, 用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗一遍。按照 6 孔板每孔细胞量加入 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。

b)对于悬浮细胞: 离心收集细胞, 用手指把细胞用力弹散。按照 6 孔板每孔细胞量加入 150-250 ul 裂解液的比例加入裂解液, 再用手指轻弹以充分裂解细胞。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。

c)对于组织样品: 把组织剪切成细小的碎片。按照每 20mg 组织加入 150-250 ul 裂解液的比例加入裂解液。(如果裂解不充分可以适当添加更多的裂解液, 如果需要高浓度的蛋白样品, 可以适当减少裂解液的用量)。用玻璃匀浆器匀浆, 直至充分裂解。

2、后处理:

将裂解后的样品 10000-14000g 离心 3-5 分钟, 取上清, 即可进行后续的蛋白浓度测定、SDS-PAGE、Western blotting 和免疫沉淀等操作。

注意事项:

本试剂为强烈型裂解液, 可以提取核蛋白, 但在提取核蛋白的同时, 也会将基因组一并释放出来, 若细胞量多会造成细胞裂解液粘稠: 此时可以超声打断基因组或者直接加入蛋白上样缓冲液, 煮沸再离心, 离心后直接上样电泳; 若想测定浓度, 可加入少量 SDS (1%), 煮沸后离心测浓度。本系列蛋白提取试剂所提取的蛋白由于含有去污剂, 所以不适合使用 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒, 请选择 BCA 法或者 Lowry 法检测蛋白浓度。

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粘稠状物, 随后离心取上清用于后续实验。

相关产品:

P1020 1×PBS, PH7.2-7.4, 0.01M

R0020 RIPA 组织细胞裂解液

R0030 非变性组织细胞裂解液

P1015 4×蛋白上样缓冲液 (含 DTT)

PC002 BCA 法蛋白浓度测定试剂盒

相关文献:

- [1] Yunzhao Chen,Dandan Wang,Hao Peng,et al. Epigenetically upregulated oncoprotein PLCE1 drives esophag- eal carcinoma angiogenesis and proliferation via activating the PI-PLC ϵ -NF- κ B signaling pathway and VEGF-C/ Bcl-2 expression. Molecular Cancer. January 2019. (IF 10.679)
- [2] Yan Huang,Yang Xu,Yuhua Lu,et al. lncRNA Gm10451 regulates PTIP to facilitate iPSCs-derived β -like cell differentiation by targeting miR-338-3p as a ceRNA. Biomaterials. September 2019. (IF 10.273)
- [3] Yu Wang,Chuanqiang Wu,Chao Zhang,et al. TGF- β -induced STAT3 overexpression promotes human head and neck squamous cell carcinoma invasion and metastasis through malat1/miR-30a interactions. Cancer Letters. November 2018. (IF 6.491)
- [4] Shichao Gao,Qiao Song,Jing Liu,et al. E2F1 mediates the downregulation of POLD1 in replicative senescence. Cellular and Molecular Life Sciences. July 2019;76(14):2833-2850. (IF 7.014)

注: 更多使用本产品的文献请参考索莱宝官网。