

Superbrilliant[®] WB 超能高效 RIPA 裂解缓冲液**Superbrilliant[®] WB High quality Super RIPA lysis buffer**

Cat. No.: ZS-PR21001

组分

货号	组分	ZS-PR21001S	ZS-PR21001M	ZS-PR21001L
101001	WB High quality Super RIPA lysis buffer	100ml	250ml	500ml
	说明书	1 份	1 份	1 份

储存: 常温保存, 可保存 2 年。

根据试验情况推荐选择组合

试验类型	组合类型选择
Western Blot 杂交, 非磷酸化蛋白	ZS-PR21001+ZS-PR21003
Western Blot 杂交, 非磷酸化及磷酸化蛋白	ZS-PR21001+ZS-PR21004

蛋白酶及磷酸酶抑制剂组分及抑制性能

	蛋白酶抑制剂混合物 A	磷酸酶抑制剂混合物 B	磷酸酶抑制剂混合物 C
组分	104mM AEBSF 80μM Aprotinin 5mM Bestatin 1.5mM E-64 2mM Leupeptin 1.5mM Pepstatin A	100mM Sodium Fluoride 100mM Sodium Orthovanadate 400mM Sodium Tartrate 115mM Sodium Molybdate 200mM Imidazole	2.5mM (-)-p-Bromotetramisole oxalate 500μM Cantharidin 500nM Microcystin LR, Microcystis aeruginosa
抑制蛋白酶种类	Serine Aminopeptidases Cysteine Aspartic proteases	Acid phosphatases Alkaline phosphatases PTPs, ATPases, Acid phosphatases Acid and phosphoprotein Alkaline phosphatases	Alkaline phosphatases Ser/Thr phosphatases PP1 and PP2A

简介: WB 超能高效 RIPA 裂解缓冲液主要是从动物组织和动物细胞中抽取的可溶性蛋白, 是一种传统的组织以及细胞快速裂解液, 主要用于从动物组织和哺乳动物细胞中抽取可溶性蛋白, 可用于裂解贴壁细胞和悬浮细胞。本产品可以用于动物、植物的细胞或组织样品, 也可以用于真菌或细菌样品。RIPA 的本意是 Radio Immunoprecipitation Assay。提取的蛋白可用于 SDS-PAGE、Western Blot、ELISA、酶活性分析等后续实验。

用途: 用于 Western Blot 杂交的蛋白样品提取, 可高效提取细胞膜、胞浆、细胞核蛋白。不能用于 Co-IP/IP 试验。

制备 Western Blot 杂交蛋白样品

1. 对于培养细胞样品 ($0.5 \sim 10 \times 10^6$ 个) :

(1). A: 非磷酸化蛋白的提取: 在使用前数分钟内向 WB Super RIPA 裂解液中, 加入蛋白酶抑制剂混合物 A (ZS-PR22005), 使其最终浓度为 $1 \times$ 。如 $250 \mu\text{l}$ WB Super RIPA 裂解液, 加入 $2.5 \mu\text{l}$ 蛋白酶抑制剂混合物 A, 混合均匀, 待用。

B: 磷酸化蛋白的提取: 在使用前数分钟内向 WB Super RIPA 裂解液中, 加入蛋白酶抑制剂混合物 A、磷酸酶抑制剂混合物 B、磷酸酶抑制剂混合物 C (ZS-PR22006) 各 $2.5 \mu\text{l}$, 使其最终浓度为 $1 \times$ 。如 $250 \mu\text{l}$ WB Super RIPA 裂解液, 加入 $2.5 \mu\text{l}$ 蛋白酶抑制剂混合物 A、 $2.5 \mu\text{l}$ 磷酸酶抑制剂混合物 B、 $2.5 \mu\text{l}$ 磷酸酶抑制剂混合物 C, 混合均匀, 待用。

注意: 加入蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂后的 WB Super RIPA 裂解液可于-20°C 保存 2 个月, 性能不会有下降; 加入 Benzonase 核酸酶 (ZS-PR23001) 至终浓度为 0.25 U/ μ l, 可有效降低样品粘度提高蛋白提取效率。

(2). 离心收集细胞, 弃上清。加入 250 μ l 上述配制好的裂解液, 枪头或旋涡振荡混合均匀。冰上放置 30min。

(3). 样品裂解后, 13,000 rpm 离心 5min, 取上清, 即为所提取蛋白。

2. 对于组织样品:

(4). 组织用研钵 (或匀浆器) 研磨充分至细小颗粒。

(5). 按照每 10 mg 组织加入 250 μ l 裂解液的比例加入裂解液。 (如果裂解不充分可以适当增加裂解液, 如果需要高浓度的蛋白样品, 可以适当减少裂解液的用量), 冰上放置 30min。

(6). 样品裂解后, 13,000 rpm 离心 5min, 取上清, 即为所提取蛋白。

(7). 提取完蛋白后可利用 BCA 蛋白定量试剂盒(ZS-PR25001)测定蛋白浓度。

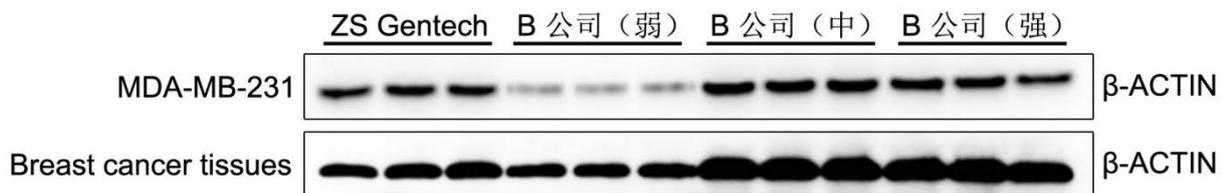


Fig1. MDA-MB231 细胞 6×10^5 细胞/管, 每管加入 100 μ l 裂解液, 冰上孵育 15 min, 收集上清获取蛋白。20 mg 乳腺癌组织加入 400 μ l RIPA, 超声破碎获取蛋白。100°C 煮 10 分钟使之变形, ECL 显影。