

公司产品仅供科学研究使用、不得用于临床诊断!

商品属性:

产品名称	规格	货号
Co-IP/IP RIPA Lysis Buffer	100ml	P-PR1332

第一部分、制备 Western Blot 杂交蛋白样品

1. 对于培养细胞样品 (0.5~10×10⁶ 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, 使其最终浓度为 1×。如 250μl WB Super RIPA 裂解液, 加入 2.5μl 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 各 2.5μl, 使其最终浓度为 1×。如 250μl WB Super RIPA 裂解液, 加入 2.5μl 蛋白酶抑制剂混合物 A、2.5μl 磷酸酶抑制剂混合物 B、2.5μl 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 核酸酶至终浓度为 0.25 U/μl, 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 μl 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 μl 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 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。如蛋白提取过程中加入了 Benzonase 核酸酶消化核酸后, 样品可以直接 NanoDrop 测定吸光值进行蛋白相对定量。

第二部分、制备 Co-IP/IP 蛋白样品

1. 对于培养细胞样品 (0.5~10×10⁶ 个):

(1). A: 非磷酸化蛋白的提取: 在使用前数分钟内向 Co-IP/IP RIPA 裂解液中, 加入蛋白酶抑制剂混合物 A, 使其最终浓度为 1×。如 250μl Co-IP/IP RIPA 裂解液, 加入 2.5μl 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 Co-IP/IP 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 各 2.5μl, 使其最终浓度为 1×。如 250μl Co-IP/IP RIPA 裂解液, 加入 2.5μl 蛋白酶抑制剂混合物 A、2.5μl 磷酸酶抑制剂混合物 B、2.5μl 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 Co-IP/IP RIPA 裂解液可于 -20°C 保存 2 个月, 性能不会有下降。

(2). 离心收集细胞, 弃上清。加入 250 μl 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 μl 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 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。如蛋白提取过程中加入了 Benzonase 核酸酶消化核酸后, 样品可以直接 NanoDrop 测定吸光值进行蛋白相对定量。