

タンパク質抽出試薬[RIPA]

Cat No. CL-3070

【目的・用途】

本試薬は哺乳類細胞からタンパク質を抽出する最も一般的な試薬です。接着細胞と浮遊細胞の両方に使用可能で、細胞質タンパク質、膜タンパク質、核タンパク質を抽出することができます。得られたタンパク質溶液はレポーターアッセイやイムノアッセイ、アフィニティー精製等に直接使用できます。タンパク定量はXL-Bradford[界面活性剤適応] (Cat No. KY-1040)またはBCAキット(Cat No. KY-2010)を用いてください。

【特徴】

- 1) 最も一般的なタンパク質抽出試薬
- 2) ready-to-use
- 3) 細胞質タンパク質、膜タンパク質、核タンパク質を抽出可能

【内容】

内容	容量	保存方法
タンパク質抽出試薬[RIPA]	100 mL	4℃

【保存期間】

上記保存方法にて1年間

【組成】

50mM Tris-HCl (pH8)、150mM NaCl、1% NP-40、0.5% デオキシコール酸ナトリウム、0.1% SDS

【本試薬以外に必要なもの】

- プロテアーゼインヒビター(必要な場合)
- 冷 PBS
- セルスクレーパー(接着細胞の場合)
- 遠心チューブ
- ソニケーター(必要な場合)
- 遠心機

【使用上の注意】

- 本試薬にはプロテアーゼインヒビターが含まれておりません。必要に応じてプロテアーゼインヒビターをご用意ください。また、使用する場合は本試薬と混合してから使用して下さい。
- 本試薬は冷却して使用して下さい。
- タンパク質の分解を防ぐため、すべての操作は氷上で行ってください。
- 本試薬には1%デオキシコール酸、0.1%SDSが含まれておりますので、プロテインキナーゼなどの酵素活性に影響がある場合があります。
- 本試薬には界面活性剤が含まれておりますので、タンパク定量はXL-Bradford[界面活性剤適応] (Cat No. KY-1040)またはBCA法(Cat No. KY-2010)を用いてください。

【使用方法1】接着細胞の場合

必要な場合、プロテアーゼインヒビターを本試薬と混合してください。

- 1) プレートから培地を除きます。
- 2) 冷 PBS で細胞を洗浄します。(2回行ってください)
- 3) 5×10^6 cells に対して1mLの抽出試薬を加え、氷上で5分間インキュベートします。
※時々プレートを回し、抽出試薬が均一にプレートに広がるようにしてください。
- 4) セルスクレーパーで細胞ライセートを集め、新しい遠心チューブに移します。
※より多くのタンパク質を回収したい場合、50%パルスで30秒間ソニケーションを行ってください
- 5) $14,000 \times g$ 、15分間遠心します。
- 6) 上清を新しいチューブに移し、次の実験に用います。

【使用方法2】浮遊細胞の場合

必要な場合、プロテアーゼインヒビターを本試薬と混合してください。

- 1) $1,000 \times g$ 程度で、5分間遠心し、細胞を沈殿させます。
- 2) 上清を捨て、冷 PBS で洗浄し $1,000 \times g$ 程度で、5分間遠心します。
- 3) 2)をもう一度繰り返します。
- 4) $40\text{mg}(\sim 5 \times 10^6 \text{ cells})$ の細胞ペレットあたり1mLの抽出溶液を加え、ピペティングにより細胞を懸濁します。
- 5) 氷上、15分間インキュベートします。
※3分毎に穏やかに混合してください。
※より多くのタンパク質を回収したい場合、50%パルスで30秒間ソニケーションを行ってください
- 6) $14,000 \times g$ 、15分間遠心分離します。
- 7) 上清を新しいチューブに移し、次の実験に用います。



株式会社ファーマフーズ アプロサイエンスグループ
〒770-0865 徳島県徳島市南末広町4-53 エコービル4階
■Tel:088-678-6372 ■Mail:bio@apro-s.com
■Url:https://apro-s.com/
本社 〒615-8245 京都府京都市西京区御陵大原1-49