

RIPA-Puffer

Zellysepuffer für die Proteinextraktion aus Säugetierzellen

Der RIPA-Puffer gehört zu einem der zuverlässigsten Zellysepuffer für eine schnelle und effiziente Lyse von Säugetierzellen aus Adhäsions- oder Suspensionskulturen.

Zusammensetzung

Bestandteile	Konz.
TRIS-Hydrochlorid	50 mM
Natriumchlorid	150 mM
Tergitol™ 15-S-9	1 %
Desoxycholsäure Natriumsalz	0,5 %
SDS	0,1 %
Wasser	

Allgemeine Information

Der Name Radioimmunpräzitationspuffer, kurz RIPA-Puffer, leitet sich von der ursprünglichen Anwendung, dem Radioimmunpräzitations-Assays, ab. Heute wird diese Methode oft nicht mehr angewendet, aber dennoch gilt der RIPA-Puffer als eines der gängigsten Reagenzien für den Zellaufschluss von Säugetierzellen. Er hat sich als sehr zuverlässige Methode, für eine schnelle und effiziente Zellyse zahlreicher Zelltypen erwiesen und ermöglicht dadurch eine wirkungsvolle Proteinextraktion und -solubilisierung. Die einzigartige Zusammensetzung des RIPA-Puffers bringt einige Vorteile mit sich:

- Extraktion von Proteinen zahlreicher Zelltypen
- Effiziente Zellyse und Solubilisierung von Proteinen
- Proteinabbau wird verhindert
- Keine Beeinträchtigung der meisten Antikörper und Proteinantigene
- Minimiert unspezifische Proteinbindungswechselwirkungen und gewährleistet somit einen niedrigen Hintergrund bei der Immunpräzitation und bei molekularen Pulldown-Assays
- Kompatibel mit vielen Anwendungen, einschließlich Reporter-Assays, Proteinassays, Immunassays und Proteinaufreinigungen

Trotz der vielen Vorteile, ist der RIPA-Puffers nicht für alle *downstream* Analysen geeignet. Beispielsweise erzeugt er ein besonders starkes Absorptionssignal bei einer Wellenlänge von 280 nm, was bei Absorptionsanalysen berücksichtigt werden sollte. Auch sollte zuvor geprüft werden, ob die Detergenzienformulierung mit Ihrer nachgeschalteten Anwendung kompatibel ist.

Nachfolgend finden Sie ein Protokoll für den Zellaufschluss von Säugetierzellen aus adhärennten Kulturen sowie Suspensionskulturen.

Das Protokoll dient als Leitfaden und sollte entsprechend Ihren spezifischen Bedürfnissen angepasst werden.

**Achtung! Die Verwendung dieses Produkts ist ausschließlich für geschultes Personal vorgesehen. Die Gebrauchstauglichkeit muss vom Endbenutzer bestimmt werden.
Lesen Sie die Anweisungen des Zentrifugenherstellers und tarieren Sie die Proben vor der Verwendung der Zentrifuge richtig aus.**

Zellaufschluss bei adhärennten Zellen

Hinweis: Puffer enthält keine Protease- und Phosphataseinhibitoren. Diese sollten nach Bedarf unmittelbar vor der Verwendung hinzugegeben werden.

1. Entfernen Sie vorsichtig das Medium in der Zellkulturflasche.
2. Waschen Sie den Zellrasen wie gewohnt 2-mal mit kaltem DPBS oder PBS. Entfernen Sie den Waschpuffer.
3. Geben Sie den kalten RIPA-Puffer auf die Zellen. Dosierungshilfe: 1 ml Puffer auf 75 cm² Zellrasen (0,5 bis 5 x 10⁷ Zellen).
4. Lassen Sie den Puffer 5 min auf Eis oder im Kühlschrank inkubieren und achten Sie darauf, dass der Puffer durchgehend gleichmäßig auf dem Zellrasen verteilt ist.
5. Kratzen Sie direkt im Anschluss die noch adhärennten Zellen mit einem Zellschaber vom Boden ab. Überführen Sie das gesamte Zelllysate in ein Zentrifugenröhrchen auf Eis. Das Lysat kann entweder sofort verwendet oder in flüssigem Stickstoff eingefroren werden. Frieren Sie die Zellen vor dem Zentrifugationsschritt ein.
6. Zentrifugieren Sie das Zelllysate für 15 min bei 14000 x g bei 4°C.
7. Das lösliche Protein befindet sich nun im Überstand. Überführen Sie diesen vorsichtig in ein neues Röhrchen für weitere Analysen. Lassen Sie die Proteinlösung auf Eis.

Zellaufschluss bei Suspensionszellen

Hinweis: Puffer enthält keine Protease- und Phosphataseinhibitoren. Diese sollten nach Bedarf unmittelbar vor der Verwendung hinzugegeben werden.

1. Überführen Sie Ihre Zellen inklusive Medium in ein passendes Zentrifugenröhrchen und zentrifugieren Sie die Lösung für 5 Minuten bei 450 x g.
2. Dekantieren Sie das Medium, sodass das Zellpellet in dem Röhrchen bleibt.
3. Waschen Sie Ihre Zellen wie gewohnt 2-mal mit kaltem DPBS oder PBS. Dekantieren Sie den Waschpuffer anschließend.
4. Geben Sie den kalten RIPA-Puffer auf das Zellpellet und resuspendieren Sie das Pellet vollständig durch Mischen oder Vortexen. Dosierungshilfe: 1 ml Puffer auf 0,5 bis 5 x 10⁷ Zellen.
5. Lassen Sie den Puffer 5 min auf Eis oder im Kühlschrank inkubieren und vortexen Sie die Zell-Puffer-Lösung anschließend, um alle Zellen zu lysieren.
6. Das Lysat kann entweder sofort verwendet oder in flüssigem Stickstoff eingefroren werden. Frieren Sie die Zellen vor dem Zentrifugationsschritt ein.
7. Zentrifugieren Sie das Zelllysate für 15 min bei 14000 x g bei 4°C.
8. Das lösliche Protein befindet sich nun im Überstand. Überführen Sie diesen vorsichtig in ein neues Röhrchen für weitere Analysen. Lassen Sie die Proteinlösung auf Eis.

Achtung H319

Voller Wortlaut der Gefahren- und Sicherheitshinweise siehe Sicherheitsdatenblatt Abschnitt 2.2

RIPA-Puffer bei Carl Roth

RIPA-Puffer	100 ml	23T1.1
RIPA-Puffer	250 ml	23T1.2
RIPA-Puffer	500 ml	23T1.3

Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5 • 76185 Karlsruhe • Postfach 100121 • 76231 Karlsruhe
Telefon: +49 (0) 721/ 5606-0 • Fax: +49 (0) 721/ 5606-149 • info@carlroth.de • www.carlroth.de

LH 11/2023

