

FUJIFILM**Wako**Code No. 182-02451 (100 mL)
188-02453 (250 mL)

for genetic research

RIPA Buffer

RIPA (Radio-Immunoprecipitation Assay) Buffer is used to prepare the cell lysate from adherent and suspension mammalian cells. The prepared cell lysates were used for several biological applications, such as immunoprecipitation, western blot and reporter assay. This product is supplied as a ready-to-use and sterilized solution.

[Formulation]

50 mmol/L Tris-HCl, pH8.0, 150 mmol/L Sodium Chloride, 0.5w/v% Sodium Deoxycholate, 0.1w/v% Sodium Dodecyl Sulfate, 1.0w/v% NP-40 substitute

This product is not included protease and phosphatase inhibitor. Protease and phosphatase inhibitors may be added to the RIPA Buffer as needed application.

[Cell Number for Use]

$1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ cells / 1 mL of RIPA Buffer

[Additional materials required]

Centrifuge, Centrifugation tube, 1.5 mL Micro centrifugation tube, Washing buffer (PBS (-) etc.), Cell scraper, Protease inhibitor, Phosphatase inhibitor.

[Procedure]**A. Lysis of adherent cells ($1 \times 10^6 - 1 \times 10^7$ cells)**

- 1) Culture the cell lines.
- 2) Remove the culture medium and wash the cells by PBS (-) at twice.
- 3) Collect the cells using a cell scraper or Trypsin-EDTA solution from dishes to new centrifugation tube. In the case of using Trypsin-EDTA solution, add medium including serum after cell collection.
- 4) Centrifuge cell suspension at 1,000 rpm ($200 \times g$) for 5 minutes at 4°C .
- 5) Remove the supernatant.
- 6) Suspend cell pellet by 1 mL of PBS (-). Transfer all of suspension into new 1.5 mL micro centrifugation tube.
- 7) Repeat step 4) to 5).
- 8) Suspend cell pellet by 1 mL of PBS (-).
- 9) Repeat step 4) to 5).
- 10) Add 1 mL of RIPA Buffer and suspend cells by pipetting.
- 11) Incubate for 5 - 10 minutes on ice.
- 12) Centrifuge the cell lysate at 14,500 rpm ($20,000 \times g$) for 10 - 30 minutes at 4°C .
- 13) Transfer the supernatant^{*1} into new 1.5 mL micro centrifugation tube.

- 1/4 -

B. Lysis of suspension cells ($1 \times 10^6 - 1 \times 10^7$ cells)

- 1) Culture the cell lines.
- 2) Centrifuge cell suspension at 1,000 rpm ($200 \times g$) for 5 minutes at 4°C .
- 3) Remove the supernatant.
- 4) [Procedure] A. Step 6) - 13).

※ 1 : Although the cell lysate prepared by RIPA Buffer would be stored in deep freezer, freeze and thaw cycle may cause the appearance of insoluble or denatured proteins. Avoid many freeze and thaw cycle.

[Reference]

Antibodies a Laboratory Manual, Harlow, E. and Lane, D., Cold Spring Harbor Press (Cold Spring Harbor, NY : 1988), p449.

[Storage]

Keep at $2 \sim 10^\circ\text{C}$.

[Package]

100 mL (182-02451)

250 mL (188-02453)

FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation

1-2, Doshomachi 3-Chome, Chuo-Ku, Osaka 540-8605, Japan
Telephone : + 81-6-6203-3741
Facsimile : + 81-6-6201-5964
<http://fwk.fujifilm.co.jp>

FUJIFILM Wako Chemicals U.S.A. Corporation

1600 Bellwood Road
Richmond, VA 23237
U.S.A.
Telephone : + 1-804-271-7677
Facsimile : + 1-804-271-7791
<http://www.wakousa.com>

FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH

Fuggerstrasse 12
D-41468 Neuss
Germany
Telephone : + 49-2131-3111-0
Facsimile : + 49-2131-311100
<http://www.wako-chemicals.de>

- 2/4 -

コード No. 182-02451 (100 mL)
188-02453 (250 mL)

遺伝子研究用 RIPA Buffer

RIPA (Radio-Immunoprecipitation Assay) Bufferは、哺乳動物細胞（接着細胞および浮遊細胞）を溶解させてタンパク質を抽出する際に使用します。細胞質、細胞膜、核に存在するタンパク質を抽出し、抽出されたタンパク質溶液はWestern Blot解析、免疫沈降、タンパク質精製、レポーターアッセイに使用できます。本品は滅菌済みで、細胞溶解に直接使用できます。

〔組成〕

50 mmol/L Tris-HCl, pH8.0, 150 mmol/L Sodium Chloride, 0.5w/v% Sodium Deoxycholate, 0.1w/v% Sodium Dodecyl Sulfate, 1.0w/v% NP-40 substitute

本品はプロテアーゼ阻害剤やホスファターゼ阻害剤は不含です。必要に応じて阻害剤のご使用を推奨いたします。

〔使用細胞数〕

$1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 細胞/本品 1 mL

〔その他必要な試薬〕

遠心分離機器、遠心チューブ、1.5 mLマイクロ遠心チューブ、細胞洗浄液（PBSなど）、細胞スクレーパー、プロテアーゼ阻害剤、ホスファターゼ阻害剤

〔使用法〕

A. 接着細胞（ $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ ）からのタンパク質抽出

- 1) 目的の細胞株を培養する。
- 2) 培養液を除いた後、氷冷したPBS（-）で2回洗浄を行う。
- 3) トリプシン-EDTA溶液または細胞スクレーパーを用いて細胞をディッシュから剥がし、遠心チューブに細胞を回収する。トリプシン-EDTA溶液を用いる場合には、細胞を剥がした後、血清入り培地などを加え、細胞へのダメージをできるだけ抑えるようにする。
- 4) 細胞懸濁液を4℃、1,000 rpm (200 × g) で5分間遠心分離し、上清を除く。
- 5) 氷冷したPBS（-）1 mLを添加し、細胞ペレットを懸濁後、1.5 mLマイクロ遠心チューブに移す。
- 6) 4℃、1,000 rpm (200 × g) で5分間遠心分離し、上清を除く。
- 7) 氷冷したPBS（-）1 mLを添加し、細胞ペレットを懸濁後、4℃、1,000 rpm (200 × g) で5分間遠心分離し、上清を除く。
- 8) RIPA Buffer 1 mLを添加し、ピペティングで細胞を懸濁する。

- 9) 氷上で5～10分間静置する。
- 10) 4℃、14,500 rpm (20,000 × g) で10～30分間遠心分離する。
- 11) 上清を新しい1.5 mLマイクロ遠心チューブに回収し細胞溶解液※1とする。

B. 浮遊細胞（ $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ ）からのタンパク質抽出

- 1) 目的の細胞株を培養する。
- 2) 細胞懸濁液を4℃、1,000 rpm (200 × g) で5分間遠心分離し、上清（培地）を除く。
- 3) 〔使用法〕A. Step 5)～11)。

※1: RIPA Bufferにより得られた細胞溶解液はディープフリーザー（-80℃）で保存が可能ですが、細胞の種類や細胞数によって不溶性タンパク質が現われる場合があります。凍結融解はできるだけ避けてください。

〔参考文献〕

Antibodies a Laboratory Manual, Harlow, E. and Lane, D., Cold Spring Harbor Press (Cold Spring Harbor, NY : 1988), p449.

〔保存〕

2～10℃

〔容量〕

100 mL (182-02451)

250 mL (188-02453)

製造発売元

富士フイルム 和光純薬株式会社
大阪府中央区道修町三丁目1番2号
Tel : 06-6203-3741

2304KA2