

RIPA 裂解液（中）

产品简介：

我们生产的 RIPA 裂解液(RIPA Lysis Buffer)是一种传统的细胞组织快速裂解液。RIPA 裂解液裂解得到的蛋白样品可以用于常规的 Western、IP 等。RIPA 裂解液(强)的主要成分为 50 mM Tris (pH 7.4), 150 mM NaCl, 1% Triton X-100, 1% sodium deoxycholate, 0.1% SDS, 以及 sodium orthovanadate, sodium fluoride, EDTA, leupeptin 等多种抑制剂。可以有效抑制蛋白降解。用 RIPA 裂解液裂解得到的蛋白样品, 可以用我们生产的 BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (WB0123/WB0124/ WB0125/ WB0126)测定蛋白浓度。由于含有较高浓度的去垢剂, 不能用 Bradford 法测定由本裂解液裂解得到样品的蛋白浓度。

产品规格：100 ml

保存条件：4℃保存, 12 个月。

使用方法:

A. 对于培养细胞样品：

取适当量的 RIPA 裂解液混匀, 在使用前加入 PMSF, 使 PMSF 的最终浓度为 1 mM。

B. 对于贴壁细胞，

去除培养液用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗一遍。加入适量裂解液。用枪吹打数下, 使裂解液和细胞充分接触。轻轻的摇晃约 5-10 min。充分裂解后, 10000-14000g 离心 10 min, 取上清, 即可进行后续操作。

表--裂解液用量说明：用于不同规格标准培养板裂解液容量

板规格/表面积	试剂容量
100 mm	500-1000 μ l
60 mm	250-500 μ l
6-well plate	200-400 μ l per well
24-well plate	100-200 μ l per well
96-well plate	50-100 μ l per well

C. 对于悬浮细胞：

离心收集细胞，用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗一遍。加入适量裂解液，用枪吹打把细胞吹散。用手指轻弹或旋涡震荡 5-10 min 以充分裂解细胞。充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。如果细胞量较多，必需分装然后再裂解。充分裂解后，10000-14000g 离心 10 min，取上清，即可进行后续操作。

D. 对于组织样品：

- 1) 手术切除的组织块迅速置于预冷的生理盐水中，漂洗数次，以清洁表面的血迹，将组织称量后切成几个较小的组织块放入组织匀浆器中。
- 2) 取适当量的 RIPA 裂解液混匀，在使用前数分钟内加入 PMSF，使 PMSF 的最终浓度为 1 mM。
- 3) 按组织净重 (g) : 裂解液(ml)=1 : 10 的比例，加入相应体积的裂解液进行匀浆(如果裂解不充分可以适当添加更多的裂解液，如果需要高浓度的蛋白样品，可以适当减少裂解液的用量)。
- 4) 用玻璃匀浆器匀浆，直至充分裂解。
- 5) 充分裂解后，10000-14000 g 离心 3- 5 min，取上清，即可进行后续作。

5. 注意事项：

- 1) 抽提蛋白的所有步骤都需在冰上或 4℃进行。建议将样品分装成合适的量，然后冷冻干燥或直接以液体状态置-20℃中保存，不要反复冻融。
- 2) 需自备 PMSF。建议在临用前数分钟内加入 PMSF，使 PMSF 的最终浓度为 1mM。PMSF(WBR0114)可以向我公司订购。
- 3) RIPA 裂解液的裂解产物中经常会出现一小团透明胶状物，属正常现象。在不检测和基因组 DNA 结合特别紧密的蛋白的情况下，可以直接离心取上清用于后续实验；否则可以通过超声处理打碎打散该透明胶状物，随后离心取上清用于后续实验。
- 4) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

***本试剂仅供实验室研究使用**