

# RIPA裂解液（强）

100ml WLA016a

仅用于科学研究,不能用于诊断



## 产品信息

**产品名称** RIPA裂解液（强）

**产品概述** RIPA裂解液（RIPA Lysis Buffer）是一种传统的组织和细胞快速裂解液，主要用于从动物组织和哺乳动物细胞中提取可溶性蛋白，可用于裂解贴壁细胞和悬浮细胞。RIPA裂解液（强）提取的蛋白可应用于蛋白定量、Western Blot、IP等检测分析。RIPA裂解液的配方有很多种，根据其裂解液的强度大致可以分为强、中、弱三类。

RIPA裂解液（强）的主要成分为50mM Tris (pH 7.4), 150mM 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。

## 包装信息

| 产品货号    | 产品名称       | 包装    |
|---------|------------|-------|
| WLA016a | RIPA裂解液（强） | 100ml |

**保存条件** -20°C保存，本试剂盒自订购之日起一年内有效。

- 注意事项**
- 1.使用RIPA裂解液得到的蛋白样品，可采用BCA法进行蛋白定量，此产品可单独向本公司订购如：WLA004 BCA蛋白定量试剂盒。本品含有高浓度的去垢剂，不能使用Bradford法进行蛋白定量。
  - 2.建议在使用RIPA裂解液前，向溶液中加入PMSF或磷酸酶抑制剂，以防止蛋白降解，或保持蛋白的磷酸化状态。
  - 3.为防止蛋白降解，所有的操作尽量在冰上进行。

## 操作流程

### I 细胞样品

#### 1.贴壁细胞蛋白抽提

- (1) 小心倾去贴壁细胞的培养液。
- (2) 可选步骤：若培养基中含有酚红或蛋白则可能干扰实验结果，请先用预冷的PBS漂洗细胞。
- (3) 加入适量RIPA裂解液（使用前2-3min内加入PMSF），在冰上用枪头吹打贴壁细胞。试剂使用量请参考表1。

|        | RIPA裂解液使用量  |
|--------|-------------|
| 100mm  | 500-1000μl  |
| 60mm   | 250-500μl   |
| 6孔培养板  | 200-400μl/孔 |
| 24孔培养板 | 100-200μl/孔 |
| 96孔培养板 | 50-100μl/孔  |

# RIPA裂解液（强）

100ml WLA016a

仅用于科学研究,不能用于诊断



## 产品信息

---

(4) 将RIPA裂解液转移至新的离心管中，冰上孵育20min，使细胞充分裂解。

(5)  $14000 \times g$ ，离心10min，转移上清液至新管中，进行下一步分析。

### 2. 悬浮细胞蛋白提取

(1) 悬浮细胞 $2500 \times g$ ，离心5min，弃去上清。

(2) 可选步骤：若培养基中含有酚红或蛋白可能干扰实验结果的物质，请使用预冷的PBS漂洗细胞。漂洗后的细胞悬浮液 $2500 \times g$ ，离心5min，弃去上清。

(3) 加入适量RIPA裂解液（使用前2-3min内加入PMSF），每 $5 \times 10^6$ 细胞加入约200-500 $\mu$ l RIPA裂解液，吹打均匀。

(4) 冰上放置20min，使细胞充分裂解。

(5)  $14000 \times g$ ，离心10min，转移上清液至新管中，进行下一步分析。

### II 组织样品

1. 取适当的RIPA裂解液，在使用前2-3min内加入PMSF。

2. 称量实验组织的重量，按照1: 10 (g/ml) 的比例加入RIPA裂解液后将组织剪成细小碎片，用电动匀浆器匀浆处理。若需要浓缩的蛋白提取物，可适当减少组织蛋白抽提试剂使用量。

3. 冰上孵育20min，使细胞充分裂解。

4.  $14000 \times g$ ，离心10min，转移上清液至新管中，进行下一步分析。

注：RIPA裂解液的裂解产物中可能会出现一小团透明胶状物，该透明胶状物为基因团，属正常现象。