



RIPA 裂解液

RIPA Lysis Buffer

产品信息:

组成	PA112-01
规格	100ml

保存条件: 常温保存。

产品介绍:

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 的本意是 Radio Immunoprecipitation Assay。RIPA 裂解液的配方有很多种, 本产品 RIPA 裂解液的主要成分为 50mM Tris(pH7.4), 150mM NaCl, 1% Triton X-100, 1% sodium deoxycholate, 0.1% SDS 以及 sodium orthovanadate, sodium fluoride, EDTA 等多种磷酸酶抑制剂。

注意事项:

- 1.裂解得到的蛋白样品, 由于含有较高浓度的去垢剂干扰, 不能用 Bradford 法测定蛋白浓度, 可以选用本公司生产的 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。
- 2.用户使用前需加入蛋白酶抑制剂如 PMSF 或者根据需要再加入 leupeptin, aprotinin 等其它抑制剂。
- 3.裂解液中 SDS 4℃保存易沉淀析出, 使用前应该 37℃-60℃水浴重新溶解完全后回复到室温使用。
- 4.裂解蛋白的所有步骤都需在冰上或 4℃进行。

操作步骤: (实验前请先阅读注意事项)

1.对于培养细胞样品:

- 1) 取适当量的裂解液, 在使用前数min内加入PMSF, 使PMSF的最终浓度为1mM。
- 2) **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(如果血清中的蛋白没有干扰, 可以不洗)。按照6孔板每孔细胞加入100-200μl裂解液的比例加入裂解液。用枪吹打数下, 使裂解液和细胞充分接触。通常裂解液接触细胞1-2秒后, 细胞就会被裂解。
- 3) **对于悬浮细胞**, 离心收集细胞, 用手指把细胞用力弹散。按照6孔板每孔细胞加入100-200μl裂解液的比例加入裂解液。用手指轻弹以充分裂解细胞。充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。如果细胞量较多, 须分装成50-100万个细胞/管, 然后再裂解。
- 4) 充分裂解后, 10000-14000g离心3-5min, 取上清, 即可进行后续的PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

裂解液用量说明: 通常6孔板每孔细胞加入100μl裂解液已经足够, 但如果细胞密度非常高可以适当加大裂解液的用量到150μl或200μl。

2.对于组织样品:

- 1) 把组织剪切成细小的碎片。
- 2) 取适当量的裂解液, 在使用前数分钟内加入PMSF, 使PMSF的最终浓度为1mM。
- 3) 按照每20mg组织加入100-200μl裂解液的比例加入裂解液。(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, 10000-14000g离心3-5min, 取上清, 即可进行后续的PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。
- 6) 如果组织样品本身非常细小, 可以适当剪切后直接加入裂解液裂解, 通过强烈vortex使样品裂解充分。然后同样离心取上清, 用于后续实验。直接裂解的优点是比较方便, 不必使用匀浆器, 缺点是不如使用匀浆器那样裂解得比较充分。

BM190311