

## RIPA裂解液（中）

**【产品简介】** RIPA裂解液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PAGE、Western、免疫沉淀、免疫共沉淀和ELISA等。

**【货号】** P1018

**【规格】** 100ml/瓶

**【保存条件】** -20℃保存，有效期为1年。

### 【使用说明】

1. 本产品是一款传统的细胞组织裂解液，该缓冲液与许多应用相容包括SDS-PAGE, western blot，免疫沉淀和ELISA等。
2. 本产品的主要成分1%NP-40, 0.5% Sodium deoxycholate, 0.1% SDS以及含有sodium fluoride, sodium orthovanadate等抑制剂，可以有效裂解蛋白样品，所有步骤都需要在冰上进行。
3. 裂解得到的蛋白样品，含有较高浓度的去垢剂，不建议用Bradford法测定蛋白浓度，可以选用BCA蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。

### 对于培养细胞样品：

溶液在使用前数分钟内加入相应量的PMSF，使PMSF的最终浓度为1mM或者根据实验需要加入适当的蛋白磷酸酶抑制剂混合物。

**贴壁细胞：**计数后去除培养液，细胞刮收集细胞，200g离心5min，用PBS、生理盐水清洗多次。按照 $2 \times 10^6$ 细胞约6孔板每孔加入150-250ul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。置于冰上，于摇床上裂解30分钟。

**悬浮细胞：**离心收集细胞，轻轻vortex或者弹击管底以把细胞尽量分散开。按照 $5 \times 10^5$ 细胞数每孔加入150-250ul裂解液的比例加入裂解液充分裂解细胞。裂解后应没有明显的细胞沉淀。

可根据需要进行超声裂解，充分裂解后，10000-14000g 4℃离心10分钟，取上清，即为蛋白提

取物，可进行后续操作。

**对于组织样品：**

- a. 把组织放于预冷的PBS或生理盐水中漂洗数次，将组织剪切成细小的组织碎片。对于心脏，肾脏等含血量丰富的应多次洗涤，确保无血液干扰。
- b. 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，或者根据实验需要加入适当的蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物。
- c. 称量组织，按照每20毫克组织加入150-250ul裂解液的比例加入裂解液，即组织净重（mg）：裂解液（ul）= 1:10的比例，然后立即进行匀浆。用玻璃匀浆器快速匀浆，直至肉眼观察无明显组织块，然后再冰上裂解30分钟左右，直至充分裂解。也可以把组织样品冷冻后液氮研磨，研磨充分后加入裂解液进行裂解。
- d. 充分裂解后，10000-14000g 4℃ 离心5-10分钟，取上清，即可进行后续蛋白分析等操作

**【注意事项】**

1. 为了您的身体安全及健康，请穿实验服及佩戴一次性手套操作。
  2. 本产品仅限于科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
-