

RIPA 裂解液(中，无抑制剂)

【货号】 BI-WB010

【规格】 100mL

【保存】 -20℃，12 个月

【产品简介】

RIPA 裂解液(中，无抑制剂)是一种常用的细胞组织快速裂解液，主要成分为 50mM Tris(pH 7.4)，150mM NaCl，1% NP-40，0.5% 脱氧胆酸钠，0.1% SDS，不含蛋白酶、磷酸酯酶等抑制剂。RIPA 裂解液裂解得到的蛋白样品可以用于常规的 Western、IP 和 ELISA 等。

使用本裂解液时，用户可以根据具体用途自行添加特定抑制剂。

【使用方法】

对于培养细胞样品：

1、融解 RIPA 裂解液，混匀。取适当量的裂解液，根据需要自行确定添加适当的抑制剂或不添加抑制剂。

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。按照 6 孔板每孔加入 150~250 μ L 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。

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 150~250 μ L 裂解液的比例加入裂解液。再用手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，必需分装成 50~100 万细胞/管，然后再裂解。

3、充分裂解后，10000~14000g 离心 3~5min，取上清，即可进行后续的 PAGE、Western 和免疫沉淀等操作。裂解液用量说明：通常 6 孔板每孔细胞加入 150 μ L 裂解液即可，但如果细胞密度非常高可以适当加量到 200 μ L 或 250 μ L。每 100 万细胞用 100 μ L 本产品裂解后获得的上清，其蛋白浓度约为 2~4mg/ml，不同细胞有所不同。

对于组织样品：

1、把组织剪切成细小的碎片。

2、融解 RIPA 裂解液，混匀。取适当量的裂解液，根据需要自行确定添加适当的抑制剂或不添加抑制剂。

3、按照每 20mg 组织加入 150~250 μ L 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 和免疫沉淀等操作。每 20mg 冻存的小鼠肝脏组织用 200 μ L 本裂解液裂解后获得的上清, 其蛋白浓度约为 15~25mg/ml, 不同状态的不同组织有所不同。

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。

【注意事项】

- 1、如需添加蛋白酶抑制剂等, 需自行准备。
- 2、裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4 $^{\circ}$ C 进行。
- 3、本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 4、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。