

RIPA裂解液（中）

100ml WLA017a

仅用于科学研究,不能用于诊断

Wanleibio



产品信息

产品名称 RIPA裂解液（中）

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（中）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（中）的主要成分为50mM Tris (pH 7.4), 150mM NaCl, 1% NP-40, 0.5% 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
WLA017a	RIPA裂解液（中）	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。

表1.贴壁细胞 RIPA裂解液使用量推荐表

细胞培养类型	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（中）

100ml WLA017a

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 5×10^6 细胞加入约200-500 μ 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。