

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。

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（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 5×10^6 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。

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。