

## RIPA 裂解液(强,无抑制剂)

### 简介:

多种成分均可以从细胞中提取总蛋白,例如 Triton、SDS、NP-40 等。RIPA 裂解液(强)(Enhanced RIPA lysis buffer ,without inhibitors)是采用一种经典的细胞组织快速裂解,并获得总蛋白的裂解液,其裂解强度大于 NP-40 裂解液、RIPA 裂解液(中)。Enhanced RIPA lysis buffer without inhibitors 主要由 Tris 、NP-40、sodium deoxycholate 等组成,不含蛋白酶和磷酸酶抑制剂,并维持原有的蛋白间相互作用。

### 组成:

产品名称	PD001-100ml	PD001-500ml	Storage
RIPA 裂解液(强,无抑制剂)	100ml	500ml	-20°C
说明书	一份		

### 保存条件:

-20°C保存,一年有效。

### 操作步骤(仅供参考):

#### (一)贴壁培养细胞

- 1、取 Enhanced RIPA lysis buffer 室温溶解混匀,根据需要选择添加或不添加抑制剂。
- 2、去除贴壁细胞的培养液,低速离心,弃上清。
- 3、按照 6 孔板每孔加入 150~250 $\mu$ l 含有 PMSF 的裂解液的比例,加入 RIPA Lysis Buffer。移液器轻轻吹打,使裂解液和细胞充分接触。置于冰上或 4°C裂解。通常裂解液作用于细胞 1~3 秒内,细胞就会被裂解。
- 4、离心(如无低温离心机,室温下离心亦可),取上清。
- 5、进行后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

#### (二)悬浮培养细胞

- 1、取 Enhanced RIPA Lysis Buffer 室温溶解混匀,根据需要选择添加或不添加抑制剂。
- 2、低速离心悬浮细胞,弃上清,收集沉淀。
- 3、用手指轻弹细胞,使其松散。按照 6 孔板每孔细胞加入 150~250 $\mu$ l 裂解液的比例,加入 Enhanced RIPA Lysis Buffer。
- 4、离心(如无低温离心机,室温下离心亦可),取上清。
- 5、进行后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

#### (三)组织样本

- 1、取 Enhanced Lysis Buffer 置于室温溶解混匀,根据需要选择添加或不添加抑制剂。

最终解释权所有 © 伊势久(江苏连云港)生物科技有限责任公司,保留一切权利



- 2、把组织剪切成细小的碎片，越小越好。取在液氮或超低温冰箱中冷冻以上的组织，迅速用液氮研磨，研磨过程尽量控制在 1~2min 之内，以减少蛋白的降解。
- 3、按照每 20mg 组织加入 150~250 $\mu$ l 裂解液的比例加入含有 PMSF 的裂解液。冰上或 4 $^{\circ}$ C 裂解。
- 4、离心(如无低温离心机，室温下离心亦可)，取上清。
- 5、进行后续的 PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

**注意事项：**

- 1、去除贴壁细胞的培养液后，如果血清中的蛋白没有干扰，可以不用清洗。
- 2、如果裂解不充分可以适当增加裂解液的用量，如果需要高浓度的蛋白样品，可以适当减少裂解液的用量。
- 3、如果细胞量较多，必需分装成 50~100 万细胞/离心管，然后再裂解。
- 4、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。
- 5、溶解 Regal RIPA Lysis Buffer 时，应尽量缩短溶解时间，避免有效成分失效。
- 6、裂解产物中经常会出现一小团透明胶状物，属正常现象。
- 7、细胞裂解的操作步骤，应置于冰上或 4 $^{\circ}$ C 进行。
- 8、本产品仅供科研使用，严禁它用。

