

RIPA 裂解液（强）说明书

RIPA Lysis Buffer（high） Instruction AP0231

产品信息

产品名称	产品货号	规格
RIPA 裂解液（强）	AP0231	100mL

保存条件

RIPA 裂解液 4℃ 保存，有效期 18 个月。

产品介绍

AR 的 RIPA 裂解液（强）(RIPA Lysis Buffer-high)是一种高效的细胞/组织裂解液。裂解得到的蛋白样品可以用于常规的 SDS-PAGE、Western blotting、免疫沉淀、免疫共沉淀等。裂解液可根据其裂解强度不同，分为强、中、弱三类。

操作步骤

如发现 RIPA 有沉淀，请放室温半小时或者常温水浴使沉淀溶解。

根据使用量，取每 1ml RIPA 加入 10ul PMSF（100mM），使 PMSF 的最终浓度为 1mM。或根据实验需要加入适当蛋白酶抑制剂复合物或/和磷酸酶抑制剂混合物。

样本裂解均需要冰上或低温操作，裂解时间 10-30 分钟。

1. 样品处理

贴壁细胞

1. 弃掉培养液，用 PBS 或生理盐水漂洗细胞一遍。
2. 按照 6 孔板每孔加入 150-250 微升裂解液的比例加入裂解液，具体体积参照细胞密度决定。
3. 吸取裂解液用移液枪吹打贴壁细胞，使裂解液和细胞充分接触，本步操作宜在冰板下进行。

悬浮细胞

1. 离心 1200rpm，5min 后收集细胞，轻轻弹击管底把细胞尽量分散开。
2. 按照 6 孔板每孔细胞加入 150-250 微升裂解液的比例加入裂解液，轻弹管底以充分裂解细胞，裂解至没有明显的细胞沉淀，此时细胞裂解完全。如果细胞量多，

必需分装成 50-100 万细胞/管，然后再裂解。

细菌或酵母

1. 取 1ml 菌液或酵母液，离心去上清。
2. 充分去除液体后，加入 100-200 微升裂解液，轻弹管底以充分裂解细胞，于冰上裂解 2-10min 至裂解完全。

组织样品

1. 组织剪切成细小的碎片。
2. 按照每 20 毫克组织加入 150-250 微升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)。
3. 用玻璃匀浆器匀浆直至充分裂解。

2. 蛋白样品收集

充分裂解后，10000-14000g 离心 5 分钟，取上清，即可进行后续的蛋白浓度测定、SDS-PAGE、Western blotting、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

注意事项

1. 用户可根据不同细胞蛋白的溶解程度自行选择强、中、弱三种裂解液。
2. 对于某些难溶解蛋白的 Western 及特殊蛋白的 IP，推荐使用裂解强度高的裂解液效果比较理想。
3. 本系列蛋白提取试剂所提取的蛋白由于含有去污剂，所以不适合使用 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒，请选择 BCA 法或者 Lowry 法检测蛋白浓度。
4. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4℃进行。
5. RIPA 裂解液的裂解产物中经常会出现一小团透明胶状物，属正常现象。该透明胶状物为含有基因组 DNA 等的复合物。在不检测和基因组 DNA 结合特别紧密的蛋白的情况下，可以直接离心取上清用于后续实验。
6. 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。
7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。