

## RIPA 裂解液（中）

**产品货号：** AR0105-100

**产品批号：** 见外包装标签

**产品规格：** 100ml

**产品保存：** 收到产品后请与 4℃ 保存，产品需用冰袋运输。

**产品描述：** 对于  $5 \times 10^6$  个细胞的抽提样品，本品可以抽提 200 次，对于 0.1g 的组织抽提样品，本品可以抽提 100 次，本产品可在 60 分钟的时间内完成蛋白的提取。

**产品说明：** 博士德 RIPA 裂解液是最可靠的缓冲液之一，其主要成分含 1% NP-40, 0.5% Sodium deoxycholate, 0.1% SDS, EDTA 等，该缓冲液能够提取细胞质蛋白，细胞膜蛋白和细胞核蛋白，且与许多应用相容，包括报告分析，蛋白质分析，免疫分析和蛋白质纯化等。RIPA 裂解液不含蛋白酶或磷酸酶抑制剂，如果需要，可将酶抑制剂添加到试剂中以防止蛋白质水解并维持蛋白质的磷酸化状态。一些蛋白激酶和其他酶对 RIPA 裂解液的组分敏感，导致其活性降低。在这种情况下，准备不含脱氧胆酸钠和 SDS 的 RIPA 裂解液。

### 注意事项：

1. 抽提蛋白的所有步骤都需在冰上或 4℃ 进行。
2. 裂解得到的蛋白样品，含有较高浓度的去垢剂，不建议用 Bradford 法测定蛋白浓度，可以选用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。
3. 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 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；如果需要检测和基因组结合特别紧密的蛋白，则可以通过超声处理打碎打散该透明胶状物，随后离心取上清用于后续实验。如果检测一些常见的转录因子，例如 NFκB、p53 等时，通常不必进行超声处理，就可以检测到这些转录因子。

### 使用方法：

取适当量的裂解液，放与 4℃ 预冷，使用前数分钟内需加入酶抑制剂。

### 对于细胞：

1. **贴壁细胞**，细胞刮刮下细胞，计数，并收集  $5 \times 10^6$  个细胞，600g 离心 5 分钟，尽量吸尽上清，用预冷的 PBS 重悬细胞，600g 离心 5 分钟收集细胞，尽量吸尽上清，加入 0.5ml 的预冷的裂解液，用移液器吹打数下，冰上孵育 30 分钟，10000g 离心 10 分钟，取上清，即为蛋白提取物。

**注意：**可以直接将裂解液加入培养细胞的器皿中裂解细胞，具体操作如下，

用移液枪小心吸去培养液，加入适量的预冷的 PBS，用移液枪小心吸去 PBS，按照下表加入裂解液，冰上孵育 30 分钟。将裂解液转入离心管中， 10000g 离心 10 分钟，取上清，即为蛋白提取物。

板规格/表面积	试剂用量
100mm	500~1000ul
60mm	250~500ul
6-well plate	200~400ul per well
24-well plate	100~200ul per well
96-well plate	50~100ul per well

2. **悬浮细胞**，计数，并收集  $5 \times 10^6$  个细胞，600g 离心 5 分钟，尽量吸尽上清，用预冷的 PBS 重悬细胞，600g 离心 5 分钟收集细胞，尽量吸尽上清，加入 0.5ml 的预冷的裂解液，用移液器吹打数下，冰上孵育 30 分钟，10000g 离心 10 分钟，取上清，即为蛋白提取物。

**对于组织：**

1. 手术切除的组织块迅速置于预冷的生理盐水中，漂洗数次，洗净组织血迹，用滤纸吸干组织表面液体，将组织切成几个较小的组织块。
2. 称量组织，按组织净重(g)：裂解液(ml)=1：10 的比例，加入相应体积的裂解液进行匀浆，(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. 匀浆器匀浆,肉眼观察无明显组织块，冰上孵育 30 分钟。
4. 10000g 离心 10 分钟,取上清，即为蛋白提取物。