

含蛋白酶磷酸酶抑制剂的 RIPA(通用型)

货号: FWP107 规格: 100ml

【原理】

RIPA 裂解液(RIPA Lysis Buffer)是一种传统的细胞组织快速裂解液。RIPA 裂解液裂解得到的蛋白样品可以用于常规的 Western、IP 等。本产品 RIPA 裂解液已经加入了蛋白酶和磷酸酶抑制剂 PMSF, Na_3VO_4 等。

【储存条件及有效期】

- 1、-20°C条件下保存。
- 2、本试剂盒有效期一年，请在有效期内使用。
- 3、为了避免试剂长时间暴露于空气中发生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

【使用方法】

对于培养细胞样品：

1. 取适当量的裂解液
2. 样本处理

对于贴壁细胞，去除培养液，用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗一遍。按照 6 孔板每孔加入 100-200 μL 裂解液的比例加入裂解液。用枪吹打数下，使裂解液和细胞充分接触。通常裂解液接触细胞 1-2 秒后，细胞就会被裂解。

对于悬浮细胞，离心收集细胞，用手指把细胞用力弹散。按照 6 孔板每孔细胞加入 100-200 μL 裂解液的比例加入裂解液。用手指轻弹以充分裂解细胞。充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。如果细胞量较多，必须分装成 50-100 万细胞/管，然后再裂解。

3. 一般裂解时间建议 15-20 分钟可以充分裂解，而后 4°C，10000-14000g 离心 3-5 分钟，取上清，即可进行后续的 PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

裂解液用量说明：通常 6 孔板每孔细胞加入 100 μL 裂解液已经足够，但如果细胞密度非常高可以适当加大裂解液

的用量到 150 μ L 或 200 μ L 。

对于组织样品：

1. 取适当量的裂解液等。
2. 把组织剪切成细小的碎片。
3. 按照每 20 毫克组织加入 100-200 μ L 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。
4. 用玻璃匀浆器匀浆, 直至充分裂解。
5. 充分裂解后, 10000-14000g 离心 3-5 分钟, 取上清, 即可进行后续的 PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。
6. 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。然后同样离心取上清, 用于后续实验。直接裂解的优点是比较方便, 不必使用匀浆器, 缺点是不如使用匀浆器那样裂解得比较充分。

【注意事项】

1. 本品已经加入了蛋白酶和磷酸酶抑制剂, 如果特殊蛋白仍容易降解或者发生去磷酸化等, 建议额外添加抑制效果更好的蛋白酶和磷酸酶抑制剂。
2. 裂解蛋白的所有步骤都需在冰上或 4 $^{\circ}$ C 进行。