For Research Use Only

RIPA裂解液（强）

Catalog Number: PR20035

proteintech®

www.ptgcn.com

产品介绍

Proteintech开发的RIPA裂解液（强）是一款裂解强度强的裂解液，可用于从细胞、组织中制备非变性蛋白裂解物。可以用于Western Blot、IP、Co-IP、ELISA 等实验。RIPA 裂解液（强）主要成分为Tris (pH 7.4)，NaCl，Triton X-100，Sodium Deoxycholate，SDS，NaF，EDTA-2Na等。

产品成分

组分	规格
RIPA裂解液（强）	50 mL/100 mL

包装规格

50 mL/100 mL

保存条件

4℃保存，一年有效。

使用方法

1. 对于细胞样品

取适当量的裂解液，使用前数分钟内加入蛋白酶抑制剂混合液（货号：PR20032 / PR20016），用于磷酸化相关检测需要添加磷酸酶抑制剂混合液（货号：PR20015）。

a. 瓶内裂解法（效果最佳）：适用于所有的贴壁细胞

（1）吸净培养基，用预冷的PBS清洗细胞表面2遍（动作轻柔，防止细胞脱落），尽可能吸取残留的PBS。

（2）在冰上按每1000万细胞加入1 mL预冷的裂解液于细胞瓶、培养板或培养皿中，用移液管吹散贴壁的细胞，对于贴壁紧的细胞也可使用细胞刮收集，收集裂解液，在冰上放置30 min，期间每10 min上下颠倒混匀一次。

b. 离心法：适用于悬浮细胞和药物处理过的细胞

（1）使用细胞刮收集细胞悬液（连同培养基一起收集），4℃，500 g离心5 min，收集沉淀，沉淀用预冷的PBS洗涤两遍，收集细胞沉淀，尽可能吸取残留的PBS。

（2）按每1000万细胞加入1 mL预冷的裂解液，在冰上放置30 min，期间每10 min上下颠倒混匀一次。

注意：

（1）细胞的收集优先使用瓶内裂解法处理，瓶内裂解法可以有效的防止细胞在离心过程中破碎，能有效地提高总蛋白得率，同时也能保留细胞外基质（ECM）。

（2）对于药物处理过的贴壁细胞则推荐使用离心法收集，因为药物处理过的细胞往往贴壁不牢，在PBS清洗阶段容易丢失。

（3）一些细胞粘度高（HEK-293）和密度高的悬浮细胞（Jurkat、K-562等）在加入细胞裂解液后容易形成絮状物，此时应及时的使用超声破碎仪将其打散。

（4）用于 Western Blot、IP、ELISA 等实验的样品推荐使用超声波对样品进行辅助破碎，用于Co-IP的样品尽量避免使用超声处理样本。

2. 对于动物组织样品

取适当量的裂解液，使用前数分钟内加入蛋白酶抑制剂混合液（货号：PR20032 / PR20016），用于磷酸化相关检测需要添加磷酸酶抑制剂混合液（货号：PR20015）。取新鲜的动物组织，用预冷的PBS洗净组织块上附着的脂肪和血液等杂质，用滤纸吸干水分后称重。

a. 液氮研磨法： 将剪碎的组织块在研钵中加入液氮，快速研磨至细粉状，转移至EP管中，按每100 mg组织加1 mL预冷的裂解液，使用移液器上下吹打混匀，直至完全溶解。

b. 冷冻研磨机法： 提前开启冷冻研磨机预冷，将吸干水分的组织样本剪成1-2 mm左右的小块，按照每管100 mg分装到2 mL离心管，同时每管加入1粒5 mm的研磨珠。将离心管和适配器放入液氮里浸泡速冻。将离心管和适配器转移到冷冻研磨机，使用65HZ研磨45秒，如果研磨效果不理想可中断15秒后重复研磨一次。每管加1 mL预冷的裂解液，使用移液器上下吹打混匀，直至完全溶解。

c. 匀浆法： 在离心管中将组织块剪碎，然后在冰上，按每100 mg组织加1 mL预冷的裂解液。将样品转移到合适大小的预冷玻璃匀浆器中，在冰浴条件下对样品匀浆30-50次至充分裂解。

鉴定方法：取20 uL匀浆30次后的组织样品加入等体积的0.4%台盼蓝溶液，混匀，在显微镜下观察台盼蓝溶液染色阳性（蓝色）细胞数目的比例，当阳性（蓝色）细胞破碎达到100%即说明裂解充分。若阳性（蓝色）细胞比例未达到100%，适当增加匀浆次数，随后按照同样的方法使用台盼蓝溶液进行鉴定。

注意：

（1）优先推荐选用液氮研磨法和冷冻研磨机法，其破碎效果最佳；其次推荐使用匀浆法，匀浆法易产生热量，加快降解。

（2）使用冷冻研磨机法对液氮速冻过的样本进行破碎，对离心管的材质要求比较高，需选用专用的离心管。

（3）用于 Western Blot、IP、ELISA 等实验的样品推荐使用超声波对样品进行辅助破碎，用于Co-IP的样品尽量避免使用超声处理样本。

3. 对于植物、细菌等其它类型样本： 具体步骤请参照文献或资料中特定样本相应的通用操作进行。

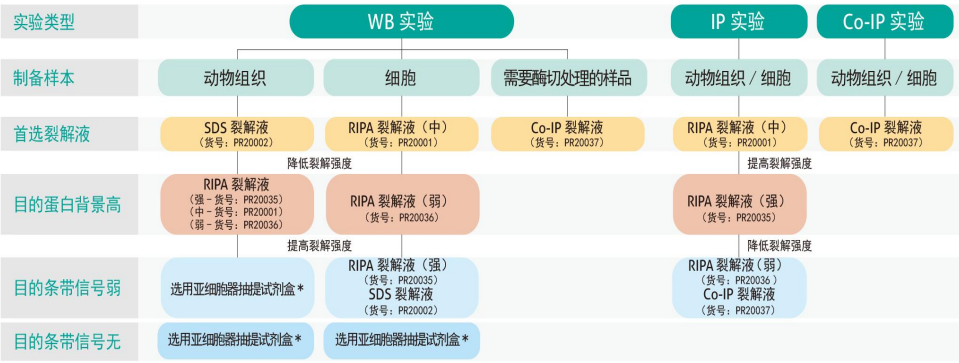
注意

1. 需自备蛋白酶抑制剂混合液（货号：PR20032 / PR20016）和磷酸酶抑制剂混合液（货号: PR20015）。
2. 不同的样品之间蛋白含量存在差异，可根据实际样品调整加入的裂解液体积。
3. 提取得到的总蛋白可以使用Proteintech的BCA蛋白浓度检测试剂盒（货号：PK10026）测定蛋白浓度，不适用Bradford法测蛋白浓度。
4. 裂解产物中可能会出现一小团透明胶状物，为含有基因组DNA等的复合物。在低温的条件下，用超声处理打碎打断该透明胶状物，随后 10000 g离心取上清用于后续实验。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
6. 本产品仅用于科研，不得用于临床诊断或治疗。

附录1：Proteintech各种裂解液的特点

裂解液产品	SDS 裂解液	RIPA 裂解液（强）	RIPA 裂解液（中）	RIPA 裂解液（弱）	Co-IP 裂解液
货号	PR20002	PR20035	PR20001	PR20036	PR20037
有效成分	10% SDS	1% TritonX-100, 1% Sodium deoxycholate, 0.1% SDS	1% TritonX-100, 0.5% Sodium deoxycholate, 0.1% SDS	1% TritonX-100, 0.25% Sodium deoxycholate	1% TritonX-100
裂解强度	很强	强	中度	温和	温和
适用实验	WB	WB、IP、Co-IP	WB、IP、Co-IP	WB、IP、Co-IP	WB、IP、Co-IP

附录2：Proteintech各种裂解液的选择



*注意

1. 制备植物、细菌等其他样本，请参照相关文献或资料的操作。
2. 需要同时应用于 WB、IP 和 Co-IP 实验，可选择 RIPA 裂解液（中）（货号：PR20001）。
3. SDS 裂解液不可应用于 IP 实验。
4. Proteintech 可提供齐全的蛋白提取及检测相关试剂盒产品，可登录中文官网 ptgcn.com 查询。