

RIPA Lysis Buffer (Strong)

Cat. No.: GR0005

Size: 20 mL/ 50 mL/ 100 mL

产品信息

产品编号	产品名称	20 mL	50 mL	100 mL	Storage
GR0005A	RIPA Lysis Buffer (Strong)	20 mL	50 mL	100 mL	-20 °C
GR0005B	100 mM PMSF	200 µL	500 µL	1 mL	-20 °C
GR0005C	100 mM Na ₃ VO ₄	200 µL	500 µL	1 mL	-20 °C
说明书		一份			

产品简介

RIPA 裂解液是一种传统的细胞组织快速裂解液，作为 Western Blot 试验中从动物组织或细胞中提取蛋白的首选裂解液。

产品使用说明

1. 组织样本的处理

- 取待测组织样本，用预冷的 PBS (0.01 M, pH=7.4) 充分洗涤，洗去组织表面血液及内部杂质。
- 称重剪碎，加入适量比例的 RIPA 裂解液混合物 (1 mL 的 RIPA 裂解液中加入 10 µL PMSF 和 10 µL Na₃VO₄) 进行匀浆裂解。建议按组织重量: RIPA 体积=1:5~1:10 的比例匀浆，例如 0.1 g 的组织样本加入 0.5~1 mL 的 RIPA 裂解液混合物，具体体积可根据实验需要适当调整。
- 匀浆后冰上震荡裂解 30 min。
- 用超声破碎仪将细胞裂解液超声 (冰浴条件下进行)，直至细胞裂解液澄清，不再粘稠。
- 4°C 下 12,000 rpm 离心 10 min，取上清，待测定蛋白浓度。

2. 细胞样本处理

- 收集待测细胞样本，用预冷的 PBS (0.01 M, pH=7.4) 充分洗涤，洗去培养基等成分 (一般建议洗涤 3 次)。
- 加入适量比例的 RIPA 裂解液混合物 (1 mL RIPA 裂解液中加入 10 µL PMSF 和 10 µL Na₃VO₄) 进行冰上裂解 30 min。建议 10⁷ 个细胞中加入 1 mL RIPA 裂解液混合物 (裂解液上清蛋白浓度约为 2-4mg/mL，不同细胞中的蛋白含量可能会不同，可适当调整加入裂解液的体积)。
- 用超声破碎仪将细胞裂解液超声 (冰浴条件下进行)，直至细胞裂解液澄清，不再粘稠。
- 4°C 下 12,000 rpm 离心 10 min，取上清，待测定蛋白浓度。

保存条件

-20°C 保存，保质期 12 个月。

注意事项

1. 试剂收到后请按一次用量分装，冻存于-20°C，避免反复冻融。
2. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4°C 进行。
3. PMSF 和原硫酸钠在使用前添加，每 1 mL 裂解液中加入 10 µL PMSF 和 10 µL Na₃VO₄，使终浓度为 1 mM。如发现 RIPA 有沉淀，请放置室温或温水浴进行溶解。
4. RIPA 裂解液的裂解产物中可能会出现一团透明胶状物，属正常现象。该透明胶状物为含有基因组 DNA 等的复合物。用移液器反复吹打样本 50 次左右，可以有效降低样本粘度，离心后取上清进行后续试验。
5. 用 RIPA 裂解的得到的蛋白样品，因含有高浓度的去垢剂，不能用 Bradford 法测定样品的蛋白浓度，建议使用 BCA 法测定蛋白浓度。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。