



## 蛋白抽提试剂使用说明书

### 【产品名称】

产品通用名称：蛋白抽提试剂

产品商用名称: **RIPA裂解液**

### 【包装规格】

PP1901 ( 50 ml ) /PP1902 ( 100 ml )

### 【检验原理】

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。RIPA 的本意是 Radio Immunoprecipitation Assay。RIPA 裂解液的配方有很多种，本产品 RIPA 裂解液的主要成分为 50mM Tris(pH7.4) , 150mM NaCl , 1% Triton X-100 , 1% sodium deoxycholate , 0.1% SDS 以及 sodium orthovanadate , sodium fluoride , EDTA 等多种磷酸酶抑制剂。

### 【主要组成成分】

试剂盒由 RIPA 裂解液，使用说明书和合格证组成。主要组分及储存条件见表 1 。

表 1 试剂盒组成、储存、稳定性

试剂盒组成	货号	规格	保存
RIPA 裂解液	PP1901	50 ml	4 °C避光
	PP1902	100 ml	

### 【实验所需试剂但未提供的物品】

\* PMSF

### 【储存条件及有效期】

- 1、通用蛋白裂解/抽提试剂（非变性型）在 4°C条件下避光保存。
- 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，在使用前数分钟内加入PMSF,使PMSF的最终浓度为1mM。
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(如果血清中的蛋白没有干扰，可以不洗)。按照6孔板每孔加入100-200 $\mu$ L 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  $\mu$ L 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. 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。

**裂解液用量说明：通常6孔板每孔细胞加入100 $\mu$ L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 $\mu$ L或200 $\mu$ L。**

### 对于组织样品：

1. 取适当量的裂解液，在使用前数分钟内加入PMSF,使PMSF的最终浓度为1mM。
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 $\mu$ 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. 裂解得到的蛋白样品，由于含有较高浓度的去垢剂干扰，不能用Bradford法测定蛋白浓度，可以选用本公司生产的BCA蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。
2. 用户使用前需加入蛋白酶抑制剂如PMSF或者根据需要再加入leupeptin,aprotinin等其它抑制剂。
3. 裂解液中SDS 4 $^{\circ}$ C保存易沉淀析出，使用前应该37 $^{\circ}$ C水浴重新溶解完全后恢复到室温

使用。

4. 裂解蛋白的所有步骤都需在冰上或4℃进行。

**【生产企业】**

企业名称：无锡百泰克生物技术有限公司

注册地址：无锡惠山经济开发区惠山大道 1719-5 号四层 A 区

生产地址：无锡惠山经济开发区惠山大道 1719-5 号四层 A 区

邮政编码：214100

电话/传真：400-678-8982

网址：[www.bioteke.cn](http://www.bioteke.cn)

**【说明书核准及修改日期】**

说明书修改日期 2019 年 01 月 15 日