



## 增强型 RIPA 裂解液(含蛋白酶抑制剂)

**产品货号:** AR0102S

**产品批号:** 见外包装标签

**产品内容:** 增强型 RIPA 裂解液 100ml

蛋白酶抑制剂混合物 (100X) 1ml

**产品保存:** 增强型 RIPA 裂解液 4℃ 保存, 蛋白酶抑制剂混合物 -20℃ 保存, 一年有效。

**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:** 增强型 RIPA 裂解液是一种传统的细胞组织快速裂解液, 其主要成分含 1% TritonX-100, 1% Sodium deoxycholate, 0.1% SDS, EDTA 等, 适用于某些特殊的难裂解蛋白的抽提。裂解液裂解得到的蛋白样品可以用于常规的 Western、IP 等。本品包含蛋白酶抑制剂混合物, 其成分包含 E-64, AEBSF-HCl, bestatin, leupeptin, Aprotinin, Pepstatin 等。

### 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 等的复合物。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 NF $\kappa$ B、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:

#### 对于细胞:

**注意:** 取适当量的裂解液, 放与 4℃ 预冷, 使用前数分钟内需加入蛋白酶抑制剂混合物 (使用时按照 1:100 的比例加入到裂解液中, 例如, 1ml 裂解液中加入 10  $\mu$ l 蛋白酶抑制剂混合物)。

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：**

**注意：取适当量的裂解液，放与 4℃ 预冷，使用前数分钟内需加入蛋白酶抑制剂混合物（使用时按照 1:100 的比例加入到裂解液中，例如，1ml 裂解液中加入 10  $\mu$ l 蛋白酶抑制剂混合物）。**

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。