

RIPA 裂解液(强)

RIPA Lysis Buffer(Strong)

使用说明书

货号及规格:

目录编号	包装规格
P318-01	100mL

保存条件: 2-8°C 运输和避光保存, 有效期 12 个月。加入蛋白酶抑制剂后建议适量分装-20°C 冻存, 避免反复冻融。

产品简介:

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, 根据其裂解液的强度大致可以分为强、中、弱三类。

RIPA 裂解液(强)的主要成分为 50mM Tris(pH 7.4), 150mM NaCl, 1% Triton X-100, 1% Sodium Deoxycholate, 0.1% SDS, 以及 Sodium Orthovanadate, Sodium Fluoride, EDTA, Leupeptin 等多种抑制剂, 可以有效抑制蛋白降解。

用 RIPA 裂解液裂解得到的蛋白样品, 可以用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒(货号: P301)测定蛋白浓度。由于含有较高浓度的去垢剂, 不能用 Bradford 法测定由本裂解液裂解得到样品的蛋白浓度。

使用说明:

对于培养细胞样品:

1. 自备蛋白酶抑制剂或 PMSF, 防止蛋白降解。RIPA 裂解液在临用前需加入蛋白酶抑制剂, 充分混匀。或者取适当量的裂解液, 在使用前数分钟内加入 PMSF, 使 PMSF 的最终浓度为 1mM。
2. 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 150-250uL 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。

3. 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 150-250uL 裂解液的比例加入裂解液。再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，必需分装成 50-100 万细胞/管，然后再裂解。
4. 充分裂解后，10000-14000xg 离心 3-5min，取上清，即可进行后续的 PAGE、Western 和免疫沉淀等实验操作。

说明：裂解液用量通常 6 孔板每孔细胞加入 150uL 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 200-250uL。

对于组织样品：

1. 把组织剪切成细小的碎片。
2. 自备蛋白酶抑制剂。RIPA 裂解液在临用前需加入蛋白酶抑制剂，充分混匀，防止蛋白降解。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。
3. 按照每 20mg 组织加入 150-250uL 裂解液的比例加入裂解液。

注：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，10000-14000xg 离心 3-5min，取上清，即可进行后续的 PAGE、Western 和免疫沉淀等实验操作。
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进行裂解，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：RIPA 裂解液的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-kappaB、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。

注意事项：

1. 需自备蛋白酶抑制剂或 PMSF。裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4°C 进行。
2. 关于裂解液，也需要通过一些预实验来摸索最佳的适合您实验条件的裂解液。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

4. 本产品仅供科研使用，严禁用于临床诊断和药物等。

