

RIPA 裂解液(弱)

RIPA Lysis Buffer(Mild)

使用说明书

货号及规格:

目录编号	包装规格
P320-01	100mL

保存条件: 2-8℃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℃冻存, 避免反复冻融。

产品简介:

RIPA 裂解液是一种经典的细胞组织快速裂解液, 对动物细胞膜、胞浆、胞核成分均有较强的裂解作用, 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(弱)的主要成分为 50mM Tris-Hcl(pH7.4), 150mM NaCl, 1% NP-40, 0.25% Sodium Deoxycholate, 以及 Sodium Orthovanadate, Sodium Fluoride, EDTA 等。本产品需要和常规的蛋白酶抑制剂一起使用, 以达到更好的提取效果。本产品含有磷酸酶抑制剂, 可用于提取磷酸化蛋白。

用 RIPA 裂解液(弱)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:

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. 根据样品的类型进行如下操作:
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(若血清中的蛋白没有干扰, 可不洗)。按照 6 孔板每孔加入 150-250uL 裂解液的比例加入裂

解液，用移液器吹打数下，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，去除培养基，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。再用手指数弹以充分裂解细胞。充分裂解后应无明显的细胞沉淀。如细胞量较多，必需分装成 50-100 万细胞/管后再裂解。大团的细胞较难裂解充分，而少量的细胞由于裂解液容易和细胞充分接触，相对比较容易裂解充分。

对于组织样品：把组织剪切成细小的碎片。按照每 20mg 组织加入 150-250uL 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。使用玻璃匀浆器匀浆，直至充分裂解。

3. 样品充分裂解后，4°C 10000-14000xg 离心 3-5min，取上清，即可进行后续 PAGE、Western-Blots、免疫沉淀和免疫共沉淀等实验操作。

说明：裂解液用量通常 6 孔板每孔细胞加 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。

注意：RIPA 裂解液(弱)的裂解产物中经常会出现透明胶状物，其主要成分为基因组 DNA，当检测的目标蛋白不与基因组 DNA 紧密结合，可以直接离心裂解产物，取上清液用于后续实验；如果目的蛋白与基因组 DNA 结合非常紧密，可通过超声处理打碎打散透明胶纸物，随后离心取上清用于后续实验。

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。

=====

