



# RIPA 裂解液

RIPA Lysis Buffer

## 产品信息:

组成	PA112-01
规格	100ml

**保存条件:** 常温保存。

## 产品介绍:

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。

## 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℃保存易沉淀析出，使用前应该 37℃-60℃水浴重新溶解完全后回复到室温使用。
- 4.裂解蛋白的所有步骤都需在冰上或 4℃进行。

## 操作步骤: (实验前请先阅读注意事项)

1.对于培养细胞样品:

- 1) 取适当量的裂解液，在使用前数min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孔板每孔细胞加入100-200μl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100-200μl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，须分装成50-100万个细胞/管，然后再裂解。
- 4) 充分裂解后，10000-14000g离心3-5min，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100μl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150μl或200μl。

2.对于组织样品:

- 1) 把组织剪切成细小的碎片。
- 2) 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100-200μl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3-5min，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。