

## RIPA 裂解液（强）

| 产品编号   | 产品名称        | 包装    |
|--------|-------------|-------|
| MA0151 | RIPA 裂解液（强） | 100ml |

### 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, EDTA 等。用 RIPA 裂解液裂解得到的蛋白样品，可以用美仑生产的 BCA 蛋白定量/浓度测定试剂盒(MA0082)测定蛋白浓度。本产品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。本产品配有一支浓度为 100mM 的 PMSF（1.5ml），一般建议使用浓度为 1mM。

### 包装清单：

| 产品编号 | 产品名称        | 包装    |
|------|-------------|-------|
| 1    | RIPA 裂解液（强） | 100ml |
| 2    | 100mM PMSF  | 1.5ml |
| 3    | 说明书         | 1份    |

### 保存条件：

RIPA 裂解液（强）保存于 2-8℃，PMSF 保存于-20℃。

### 使用说明：

#### 对于培养细胞样品：

1. 融解 RIPA 裂解液，混匀。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 150-250 微升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 150-250 微升裂解液的比例加入裂解液。再用手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 万个细胞/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 和免疫沉淀等操作。

**裂解液用量说明：**通常 6 孔板每孔细胞加入 150 微升裂解液已经足够，但如果细胞密度非常高可以适当加大裂解液的用量到 200 微升或 250 微升。

**对于组织样品：**

1. 把组织剪切成细小的碎片。
2. 融解 RIPA 裂解液，混匀。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 20 毫克组织加入 150-250 微升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 和免疫沉淀等操作。
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：**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-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。若用于特定用途需要自行添加特定抑制剂或不需要添加抑制剂，对于特定的酶或生物小分子的检测是否兼容需要自行测试，美仑不提供具体的应用信息。

**注意事项：**

1. 为取得最佳的使用效果，尽量避免过多的反复冻融，可以适当分装后使用。
2. 用户使用前需加入蛋白酶抑制剂，如 PMSF。PMSF 可抑制丝氨酸蛋白酶，例如胰蛋白酶(trypsin)和胰凝乳蛋白酶(chymotrypsin)，也可抑制半胱氨酸蛋白酶和乙酰胆碱酯酶。根据需要可再加入 Leupeptin, Aprotinin 等其它抑制剂，也可以直接加入蛋白酶抑制剂混合物（货号：MB2678）。
3. 裂解液中含有 SDS 易沉淀析出，使用前应该 37℃ 水浴重新溶解完全后恢复到室温使用。
4. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4℃ 进行。
5. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。