

RIPA 裂解液(强)

产品编号	产品名称	规格
BL504A	RIPA 裂解液(强)	100 ml

别名: RIPA Lysis Buffer

产品简介:

该 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、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 1 mM。

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,必需分装成 50-100 万细胞/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-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、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、需自备 PMSF。
- 3、裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4℃ 进行。
- 4、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。
- 5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

保存条件：

- 20℃ 保存，一年有效。