

RIPA（弱）裂解液

2020.04.15R

产品简介：

RIPA（弱）裂解液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 PAGE、Western、免疫沉淀(IP)、免疫共沉淀(co-IP)和 ELISA 等。

本产品可以用于动物、植物的细胞或组织样品，也可以用于真菌或细菌样品。

RIPA(弱)裂解液的主要成分为 Tris(pH7.4), NaCl, 1% NP-40, 0.25%脱氧胆酸钠，以及原钒酸钠，氟化钠，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。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
PMK0211	RIPA(弱)裂解液	100ml/500ml
—	说明书	1 份

保存条件：

4℃保存，一年有效。

操作步骤：

（一）贴壁培养细胞

- 1、取 RIPA（弱）裂解液置室温融解混匀，加入 PMSF，使 PMSF 终浓度为 1mM。
- 2、去除贴壁细胞的培养液，用 PBS、生理盐水或无血清培养液清洗 1 次，低速离心，弃上清留取沉淀。
- 3、按照 6 孔板每孔加入 150~250 μ l 含有 PMSF 的 RIPA（弱）裂解液，移液器轻轻吹打，使裂解液和细胞充分接触，置于冰上或 4℃裂解。通常裂解液作用于细胞 1~3s 内，细胞就会被裂解。如果细胞密度非常高可以适当加大裂解液的用量到 200~250 μ l。
- 4、10000~12000g，4℃离心 5~10min（如无低温离心机，室温下离心亦可），取上清。
- 5、后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

（二）悬浮培养细胞

- 1、取 RIPA（弱）裂解液置室温融解混匀后，加入 PMSF，使 PMSF 终浓度为 1mM。
- 2、低速离心悬浮细胞，弃上清，收集沉淀。

3、用手指轻弹细胞，使其松散。按照 6 孔板每孔细胞加入 150~250 μ l 含有 PMSF 的 RIPA（弱）裂解液。如果细胞密度非常高可以适当加大裂解液的用量到 200~250 μ l。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。

4、10000~12000g，4℃离心 5~10min（如无低温离心机，室温下离心亦可），取上清。

5、进行后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

（三）组织样本

1、取 RIPA（弱）裂解液置室温融解混匀后，加入 PMSF，使 PMSF 终浓度为 1mM。

2、把组织剪切成细小的碎片，越小越好。

3、取在液氮或超低温冰箱中冷冻 30min 以上的组织，迅速研磨，研磨过程尽量控制在 1~2min 之内，以减少蛋白的降解。

4、按照每 20mg 组织加入 150~250 μ l 裂解液的比例，加入含有 PMSF 的裂解液。冰上或 4℃裂解 15~30min。

5、步骤 3、4 亦可以采用如下过程：按照每 20mg 组织加入 150~250 μ l 裂解液的比例加入含有 PMSF 的 RIPA（弱）裂解液。用玻璃匀浆器或组织研磨器匀浆，直至充分裂解，该过程尽量控制在 1~2min 之内，以减少蛋白的降解。

6、10000~12000g，4℃离心 5~10min（如无低温离心机，室温下离心亦可），取上清。

7、进行后续的 PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

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。

2. 抽提蛋白的所有步骤都需在冰上或 4℃进行。

3. 建议在临用前数分钟内加入 PMSF，使 PMSF 的最终浓度为 1mM。PMSF 可以向我公司订购。

4. 在贴壁培养细胞的操作步骤中，去除贴壁细胞的培养液后，如果血清中的蛋白没有干扰，可以不用清洗。

5. 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。

6. 在培养细胞的裂解液中，如果细胞量较多，必须分装成 50~100 万细胞/离心管然后再裂解。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，相对容易裂解充分。

7. 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，不必使用匀浆器或研磨设备，缺点是不如匀浆器或研磨那样裂解得比较充分。

8. 如果希望获得更好的裂解效果，细菌和酵母可以分别使用溶菌酶和破壁酶消化，然后再使用本裂解液进行裂解。

产品说明书

9. 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。
10. 复融后的试剂请及时使用，避免裂解液中有效成分失效。
11. 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。
12. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

更多产品详情了解，请关注公众号：

