RIPA 组织/细胞裂解液

保存：-20℃保存，一年有效。

包装内容：

产品编号	产品名称	包装
SL1010-100ml	RIPA 裂解液	100ml
SL1010-1ml	PMSF 溶液（100mM）	1ml
——	说明书	1 份

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，使用 RIPA 裂解液处理的组织细胞得到的蛋白样品可以用于常规的 Western、IP 等。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。

本公司生产的 RIPA 裂解液属于中等强度，主要成分为 50mM Tris (pH 7.4)，150mM NaCl，1% NP-40，0.5% sodium deoxycholate，0.1% SDS，以及 sodium orthovanadate，sodium fluoride，EDTA，leupeptin 等多种抑制剂。可以快速有效裂解组织细胞，解离释放细胞全组分蛋白，同时抑制蛋白降解。

用 RIPA 裂解液裂解得到的蛋白样品，可选用本公司生产的 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度。由于 RIPA 裂解液含有较高浓度的去垢剂，不能用 Bradford 法测定由本产品裂解得到样品的蛋白浓度。

使用方法

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，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。

注意：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：

* 为取得最佳的使用效果，尽量避免过多的反复冻融。购买后可以适当分装后使用。
* 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4℃进行。
* 关于裂解液的选择，一方面可以参考我们提供的裂解液成分、特点进行选择，另一方面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。
* 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。