

产品说明书

产品名称：RIPA裂解液

产品货号:LS-1201

产品规格：100ml

产品内容

组分	1瓶
RIPA裂解液	100 mL

储存条件：

4℃保存，2 年有效

产品介绍：

RIPA 即 Radio Immunoprecipitation Assay，是一种传统的细胞组织快速裂解液。裂解所得的蛋白样品可以用于常规的 Western、IP 等。主要成分是：50mM Tris (pH 7.6)，150mM NaCl，1% NP-40，0.5% sodium deoxycholate，0.1% SDS 等多种裂解剂和抑制剂，能有效地抑制蛋白降解。

对于培养细胞样品：

1. 取适量的 NCM RIPA Buffer 裂解液，在使用前数分钟内加入 PMSF，使 PMSF 的最终浓度为 1mM。

注意：RIPA Buffer 不含蛋白酶等抑制剂，根据需要在 使用前添加蛋白酶，磷酸酶等抑制剂。

2a. 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。

2b. 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。

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，通过强烈涡旋使样品裂解充分。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。

注意事项：

1. 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- κ 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。
2. 为获得最佳的实验效果，可适当分装使用，以尽量避免反复冻融。
3. PMSF 应现用现加，需自备 PMSF。
4. 裂解蛋白的所有步骤都需在冰上或 4℃进行。
5. 蛋白酶抑制剂均有较高的毒性，为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于科研

