

RIPA 裂解液

RIPA Lysis Buffer

本产品常温运输; 保存于4℃, 保质期12个月。

货号规格

PC101	RIPA 裂解液(高强度)	100 mL
PC102	RIPA 裂解液(中强度)	100 mL
PC103	RIPA 裂解液(弱强度)	100 mL
PC104	RIPA 裂解液(强中弱套装)	50 mL×3

产品简介

RIPA 裂解液(RIPA的本意是Radio Immunoprecipitation Assay)是一种传统的细胞组织快速裂解液, 主要用于从动物细胞和组织中提取可溶性蛋白, 其裂解得到的蛋白样品可以用于常规的Western Blot、IP 及 Elisa 等实验。RIPA 裂解液的配方有很多种, 根据其裂解强度大致可以分为强、中、弱三类。用RIPA 裂解液裂解得到的蛋白样品, 可以使用**BCA 蛋白定量试剂盒**(货号: ZJ101 或 ZJ102)测定蛋白浓度。

使用说明

1. 取适当量的裂解液(每 1×10^6 个细胞需要约50~100 μ L 或每 20 mg 组织样本需要约 150~250 μ L), 在使用前数分钟内将 **蛋白酶抑制剂** 按1:100 (V/V) 加入其中(**蛋白酶抑制剂** 需另行购买, 货号: GRF101);

注意: 如所需提取的为磷酸化蛋白, 还需在RIPA 裂解液中按1:100 (V/V) 加入 **磷酸酶抑制剂** (货号: GRF102)。

2. 样本裂解(需在冰上操作):

◆ 对于贴壁细胞:

- (1) 弃去培养基, 用 $1 \times$ PBS (货号: PS110, 或生理盐水、无血清培养液) 洗一遍(如果血清中的蛋白对实验没有干扰, 也可以不洗);
- (2) 尽可能地弃去 PBS (多余的液体将降低裂解液的浓度);
- (3) 按照每 1×10^6 个细胞需要约50~100 μ L 的比例加入RIPA 裂解液, 比如6孔板每孔细胞量大约需加入150~250 μ L 裂解液。用移液器吹打数下, 使裂解液和细胞充分接触。通常裂解液接触细胞1~2 s后, 细胞就会被裂解;
- (4) 将所有液体转入新的离心管中;

◆ 对于悬浮细胞:

- (1) 将细胞转移至离心管中, 离心收集细胞, 弃去培养基;
- (2) 用 $1 \times$ PBS (货号: PS110, 或生理盐水、无血清培养液) 洗一遍(如果血清中的蛋白对实验没有干扰, 也可以不洗);
- (3) 尽可能的弃去 PBS (多余的液体将降低裂解液的浓度);
- (4) 按照每 1×10^6 个细胞需要约50~100 μ L 的比例加入RIPA 裂解液, 比如6孔板每孔细胞量大约需加入150~250 μ L 裂解液。用移液器吹打数下, 使裂解液和细胞充分接触。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 $5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 个细胞/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) 按照每20 mg 组织样本加入150~250 μ L 裂解液的比例加入裂解液;

注意: 如果样本裂解不充分, 可以适当提高裂解液的用量; 若需要高浓度的蛋白样品, 也可适当降低裂解液的用量。

(3) 用玻璃匀浆器匀浆, 直至样本充分裂解;

注意: 若组织样本非常细小, 可以适当剪切后直接加入裂解液, 通过强烈涡旋振荡使其裂解充分。

3. 充分裂解后, $10,000\sim 14,000\times g$ 离心3~5 min, 小心地将上清液(蛋白样品)移入新的离心管中, 即可进行后续的PAGE凝胶电泳、Western Blot和免疫沉淀等操作。得到的蛋白样品可分装并长期保存于 -80°C 。

注意事项

1. 4°C 保存时, 裂解液中的SDS易析出, 使用前请置于 37°C 使其完全溶解, 待恢复到室温即可使用;
2. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4°C 进行;
3. RIPA裂解液的裂解产物中经常会出现一小团透明胶状物, 此为正常现象, 该物质为基因组DNA等形成的复合物。如不检测和基因组DNA紧密结合的蛋白, 可以直接离心取上清用于后续实验; 若需要检测此类蛋白, 则可以通过超声处理打散该透明胶状物, 随后离心取上清即可用于后续实验。但如果检测一些常见的转录因子, 例如NF-kappaB、p53等, 通常不必进行超声处理就可完成检测;
4. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作;
5. 本产品仅限科研使用。

产品选择参考

目录号	PC101	PC102	PC103
产品名称	RIPA 裂解液(强)	RIPA 裂解液(中)	RIPA 裂解液(弱)
有效裂解成分	1% Triton X-100, 1% sodium deoxycholate, 0.1% SDS	1% NP-40, 0.5% sodium deoxycholate, 0.1% SDS	1% NP-40, 0.25% sodium deoxycholate
裂解强度	强	中	温和
膜蛋白提取	很好	较好	一般
胞浆蛋白提取	很好	很好	很好
核蛋白提取	很好	较好	较好
主要用途	WB, IP	WB, IP	WB, IP, CO-IP

版本号: 20K04