



RIPA 裂解液（强）

产品编号：WB-0072

产品规格：50ml

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。RIPA 裂解液裂解得到的蛋白样品可以用于常规的 Western、IP 等。

RIPA 裂解液(强)的主要成分为 50mM Tris(pH7.4), 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，可以用本公司生产的 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：

RIPA 裂解液（强）	50ml（-20℃保存）
PMSF（100×）	550ul（-20℃保存）
使用说明书	1份

使用说明：

取出裂解液，待融化后颠倒混匀数次，适量分装冻存。在使用前取出 PMSF(100mM)，按比例加入（使其最终浓度为 1mM）混匀，立即使用。

1、培养细胞：

（1）贴壁细胞：去除培养液，用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗 2-3 遍（如血清中的蛋白没有干扰，也可以不洗）。按 6 孔板每孔加入 100-200ul 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数秒后细胞就会被裂解。

（2）悬浮细胞：收集培养细胞，离心去除培养液，用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗 2-3 遍（如血清中的蛋白没有干扰，也可以不洗），用手指把细胞用力弹散，按 6 孔板每孔细胞加入 100-200ul 的比例加入裂解液。如果细胞数量较大，应按 50-100 万细胞/管分装或根据细胞数量按比例增加裂解液。用手指轻弹管底以促进裂解液和细胞充分接触，裂解完全时应无明显的细胞颗粒。

裂解物经 10,000-14,000g 离心 3-5min，取上清，即可进行后续的 PAGE、Western、



免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

裂解液用量说明：通常 6 孔板每孔细胞加入 100 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 150 微升或 200 微升。

2、组织样品

取 Ep 管，分别称重标记，把组织剪切成小块装入 Ep 管中，称重。按每 20mg 组织加 100-200ul 的比例加入裂解液（如裂解不完全，可以适当增加用量；如需要的蛋白样品浓度较高，可以适当减少用量）。用手握式电动组织细胞匀浆器匀浆约 1min 或直至充分裂解。10,000-14,000g 离心 3-5min，取上清，即可进行后续的 PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

如果组织样品本身非常细小，如淋巴细胞，可直接加入裂解液，通过振荡（Vortex）以使样品裂解完全。

保存条件：

PMSF 需-20℃保存，裂解液若经常使用，可于 4℃保存至少三个月。若长期保存，建议置于-20℃，可保存一年。裂解液中含有少量 SDS，温度低会有沉淀析出，属于正常现象，使用时 37℃加热溶解即可。

注意事项：

- 1、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。
- 2、PMSF 应现用现加。
- 3、裂解蛋白的所有步骤都需在冰上或 4℃进行。
- 4、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。一旦直接接触，请立即用流水冲洗，再向医疗保健结构咨询。

常见问题分析：

细胞加入 RIPA 裂解液冰浴裂解后，离心，发现在液面附近有絮状物产生，是什么原因？

答：一般是因为细胞裂解不完全造成的。

改善方法：

- (1) 加大裂解液的量和裂解时间。
 - (2) 加入裂解液后冰浴稍微超声处理，使其裂解完全。
- 一般来说，如果细胞裂解后变得澄清、不粘稠，这个时候再离心，就不会出现絮状物了。