

RIPA裂解液 (强)

说明书

名 称	RIPA裂解液 (强)
英 文	RIPA Lysis Buffer (strong)
货 号	CSP224
外 观	液体
规 格	100ml
保 存	4℃保存, 有效期12个月。
用 途	仅供科研使用

【产品描述】

RIPA (Radio Immunoprecipitation Assay)裂解液, 是一种经典的动物组织/细胞快速裂解液, 通过组合离子型去垢剂和非离子去污剂对组织细胞的消化作用使组织细胞崩解释放出蛋白质, 对细胞膜、胞浆亚组分、胞核成分均有较强裂解作用。适用于 PAGE、Western Blotting 和免疫沉淀(IP)的研究。

中乔新舟 RIPA 裂解液(强) **不含 PMSF 组分**; 适用 PAGE、Western Blotting 和免疫沉淀(IP)的研究。

【配方表】

25mM Tris•HCl, 150mM NaCl, 1% NP-40, 1% sodium deoxycholate, 0.1% SDS, pH 7.6

【操作步骤】

贴壁细胞

1. 取适量裂解液, 加入蛋白酶抑制剂混合物(100×, 不含 EDTA) (货号:CSP225) 或 PMSF(终浓度为 1 mM, 但 PMSF 不足以抑制所有蛋白酶活性)。
2. 去除细胞培养液, 用预冷的 PBS 洗涤两次。按照 6 孔板每孔加入 150-200ul 的裂解液的比例均匀加入裂

解液，如果细胞密度过高可增加裂解液的量至 250-300 μ L。

【注】：裂解液过少会使细胞裂解不充分，影响蛋白提取的质量。

3. 用枪吹打数下，冰上放置 10 min，期间每隔 2 min 用枪吹打数下。
4. 转移细胞裂解液于 1.5 mL EP 管中。
5. 12,000 g, 4°C 离心 5min。
6. 收集上清。

悬浮细胞

1. 取适量裂解液，加入蛋白酶抑制剂混合物(100 $\times$ ，不含 EDTA) (货号:CSP225) 或 PMSF(终浓度为 1 mM，但 PMSF 不足以抑制所有蛋白酶活性)。
2. 收集细胞 $0.5\sim 2\times 10^7$ 于 1.5mL 离心管中，1mL 预冷的 PBS 洗涤两次，1,000 $\times g$ 离心 3 min，弃上清，重复三次。
3. 按照 6 孔板每孔加入 150-200 μ L 的裂解液的比例均匀加入裂解液，如果细胞密度过高可增加裂解液的量至 250-300 μ L。

【注】：裂解液过少会使细胞裂解不充分，影响蛋白提取的质量。

4. 用枪吹打数下并剧烈震荡，冰上放置 10 min，期间每隔 2 min 震荡一次。
5. 12,000 g, 4°C 离心 5 min。
6. 收集上清。

组织样品

1. 把组织剪成细小的碎片。
2. 取适量裂解液，加入蛋白酶抑制剂混合物(100 $\times$ ，不含 EDTA) (货号:CSP225) 或 PMSF(终浓度为 1 mM，但 PMSF 不足以抑制所有蛋白酶活性)。
3. 按照每 100mg 组织加入 1mL 裂解液的比例加入裂解液（如裂解不充分可适当增加裂解液，如果需要增加蛋白浓度可适当减少使用的裂解液体积）。
4. 用匀浆器匀浆，直至充分裂解（为防止蛋白降解请于冰上操作）。
5. 12,000 g, 4°C 离心 5 min。

6. 收集上清。

【运输与保存】

常温运输。4℃保存，有效期 12 个月。

【注意事项】

1. 本产品仅限于科学实验研究使用，不得用于临床诊断、治疗等领域。
2. 如需检测磷酸化蛋白，则需要额外添加磷酸酶抑制剂 II cocktail (50×) (货号:CSP226)。
3. 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。
4. RIPA 裂解液（强）含有较高浓度的去垢剂，不能用 Bradford 法测定蛋白。
5. 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。
6. 通常 6 孔板每孔细胞加入 150 μL 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 μL 或 250 μL。

表1: RIPA裂解液的参考使用量

样品来源	培养容器	收获细胞数	RIPA用量	可制备样品数
细胞	6孔板	2.5×10^6	150-250 μL	400~600
	60 mm培养板	5.2×10^6	300-500 μL	200~300
	90 mm培养板	12.2×10^6	500-1000 μL	100~200
	25 cm ² 培养瓶	5×10^6	300-500 μL	200~300

	75 cm ² 培养瓶	2×10^7	1000-2000 μ L	50~100
组织	20 mg组织块	2.5×10^6	150-250 μ L	400~600