

## RIPA Lysis Buffer (Strong)

### RIPA 裂解液（强）

#### 产品信息

产品名称	产品编号	规格
RIPA lysis buffer (strong) RIPA 裂解液（强）	20101ES60	100 mL

#### 产品描述

RIPA 裂解液（RIPA Lysis Buffer），其本意是 Radio Immunoprecipitation Assay，是一种传统的细胞组织快速裂解液，对动物细胞胞膜、胞浆、胞核成分均有较强裂解作用。根据其裂解液的强度不同，大致可以分为强、中、弱三类。

本品为裂解强度相对较强的 RIPA 裂解液（强），含有 sodium orthovanadate, sodium fluoride, EDTA, leupeptin 等多种抑制剂，可以有效抑制蛋白降解。裂解得到的蛋白样品可用于常规的 Western、IP 等实验。

#### 运输与保存方法

冰袋（wet ice）运输。-20℃保存，一年有效。尽量避免反复冻融，建议分装后使用。

#### 注意事项

- 1) PMSF 自备。
- 2) 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4℃进行。
- 3) 用 RIPA 裂解液裂解得到的蛋白样品，可以用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定其蛋白浓度（Cat NO.20201ES76）。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。
- 4) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 使用说明：

##### 一、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 1 mM。
2. **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  $\mu$ L 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。细胞充分裂解后应无明显的细胞沉淀。  
**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  $\mu$ L 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  $0.5-1 \times 10^6$  个细胞/管，然后再裂解。
3. 充分裂解后，10000-14000 g 离心 3-5 min，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  $\mu$ L 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  $\mu$ L 或 250  $\mu$ L。

##### 二、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 1 mM。
3. 按照每 20 mg 组织加入 150-250  $\mu$ L 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，10000-14000 g 离心 3-5 min，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】**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。