

RIPA 裂解液（加强型）

货号：FWP101-A 规格：100ml

货号：FWP101-B 规格：500ml

【原理】

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(加强型)是采用一种经典的细胞组织快速裂解，多种成分均可以从细胞中提取总蛋白。其裂解强度大于 NP-40 裂解液、RIPA 裂解液(通用型)。本产品主要由 Tris 、 SDS、 NP-40、 sodium deoxycholate 等组成，可以显著性增强蛋白的提取效果，对于难溶的膜蛋白也有较好的提取效果。

【实验所需试剂但未提供的物品】

蛋白酶体抑制剂及根据实验需要其他酶抑制剂（比如磷酸酶抑制剂）

【储存条件及有效期】

- 1、4°C条件下保存。
- 2、本试剂盒有效期一年，请在有效期内使用。
- 3、为了避免试剂长时间暴露于空气中发生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

【使用方法】

对于培养细胞样品：

1. 取适当量的裂解液，在使用前数分钟内加入蛋白酶体抑制剂等。

2. 样本处理

对于贴壁细胞，去除培养液，用 PBS 洗一遍；用胰蛋白酶消化液消化细胞，再加入大于胰酶 2 倍体积的完全培养基终止消化，离心去除上清。按照 6 孔板每孔加入 100-200 μ 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。通常裂解液接触细胞 1-2 秒后，细胞就会被裂解；离心取上清后，进行后续的 SDS-PAGE 、 Western 、 免疫沉淀等操作。

对于悬浮细胞，离心收集细胞沉淀，充分吸弃培养基后，按照 6 孔板每孔细胞加入 100-200 μ L 裂解液的比例加入

裂解液。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，可适当分装细胞，分批进行裂解

3. 一般裂解时间建议 15-20 分钟可以充分裂解，而后 4°C，10000-14000g 离心 3-5 分钟，取上清，即可进行后续的 PAGE、Western、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 100μL 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 150μL 或 200μL 。

对于组织样品：

1. 取适当量的裂解液，在使用前数分钟内加入蛋白酶体抑制等。
2. 把组织剪切成细小的碎片。
3. 按照每 20 毫克组织加入 100-200μL 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、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。

【注意事项】

1. 用户使用前需加入蛋白酶抑制剂如 PMSF 或者根据需要再加入 leupeptin, aprotinin 等其它抑制剂。
2. 裂解蛋白的所有步骤都需在冰上或 4°C 进行，裂解每 3-4 分钟需要弹匀裂解液细胞溶液
3. 若需做 Co-IP 实验，建议购买我们公司 Co-IP 专用裂解液。