

蛋白质研究系列

CAT#:25-191209
低温运输, -20℃保存

TIANDZ

RIPA 裂解液 (强), 2×

RIPA Lysis Buffer (S), 2×

使用手册 V1.0

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506
网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

产品及特点

RIPA (Radio Immunoprecipitation Assay) 裂解液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 等实验。本产品裂解强度较强，对膜蛋白、胞浆蛋白、核蛋白、胞浆磷酸化蛋白和各种转录因子均有很好的效果，本产品含有各种蛋白酶和磷酸蛋白酶抑制剂，能有效防止各种蛋白酶对目的蛋白的降解。我公司各种 RIPA 裂解液产品特点见下表：

产品名称	RIPA 裂解液 (强)	RIPA 裂解液 (中)	RIPA 裂解液 (弱)
裂解强度	强	中	温和
对膜蛋白的提取	很好	较好	一般
对胞浆蛋白的提取	很好	很好	很好
对核蛋白的提取	很好	较好	较好
胞浆磷酸化蛋白提取	很好	很好	很好
细胞核转录因子提取	很好	很好	很好
含蛋白酶抑制剂	是	是	是
含磷酸酯酶抑制剂	是	是	是
主要用途	WB, IP	WB, IP	WB, IP, co-IP

规格及成分

成 份	大立盒包装
RIPA 裂解液 (强) , 2×	250 mL
使用手册	1 份

运输及保存

低温运输，-20℃保存，有效期一年。

自备试剂

PMSF

使用方法

对于培养细胞样品：

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 1mM。
2. 裂解细胞
 - 2.1 对于贴壁细胞：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 微升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。
 - 2.2 对于悬浮细胞：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 微升裂解液的比例加入裂解液。再用手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 50-100 万细胞/管，

	<p>然后再裂解。</p> <p>3. 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 和免疫沉淀等操作。</p> <p>注意：通常 6 孔板每孔细胞加入 150 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 200 微升或 250 微升。</p> <p>对于组织样品：</p> <ol style="list-style-type: none"> 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 1mM。 3. 按照每 20 毫克组织加入 150-250 微升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 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。 <p>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 等的复合物。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。</p>
<p>备注</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 为取得最佳的使用效果，尽量避免过多的反复冻融。可以适当分装后使用。 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，建议使用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒，不建议使用 Bradford 法测定由本裂解液裂解得到样品的蛋白浓度。
<p>关联产品</p>	<p>RIPA 裂解液(中) (产品编号: 131007)、RIPA 裂解液(弱) (产品编号: 131008)、BCA 法蛋白定量试剂盒 (产品编号: 80815)、超敏型 BCA 法蛋白定量试剂盒 (产品编号: 80816)</p>