



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// [www.real-tims.com.cn](http://www.real-tims.com.cn)

E-mail: [real-times@vip.163.com](mailto:real-times@vip.163.com)

## RIPA 裂解液(强，不含抑制剂，不含螯合剂)

### ● 产品包装:

产品编号	产品名称	包装	说明书
RL0120F	RIPA 裂解液(强，不含抑制剂，不含螯合剂)	100 ml	1 份

### ● 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的本意是Radio Immunoprecipitation Assay。RIPA裂解液的配方有很多种，根据其裂解液的强度大致可以分为强、中、弱三类。该RIPA裂解液(强)的主要成分为50 mM Tris (pH 7.4), 150 mM NaCl, 1% Triton X-100, 1% sodium deoxycholate, 0.1% SDS, 不含蛋白酶抑制剂, 不含磷酸酶抑制剂, 不含螯合剂如EDTA或EGTA, 可适用于明胶酶谱实验的蛋白提取。使用前根据实验需要添加蛋白酶抑制剂或磷酸酶抑制剂以及EDTA或EGTA。

用该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蛋白浓度。由于含有较高浓度的去垢剂, 不能用Bradford法测定蛋白浓度。

### ● 保存、效期及运输:

-20℃保存, 有效期一年, 湿冰运输。

### ● 注意事项:

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。需自备PMSF。裂解样品的所有步骤都需在冰上或4℃进行。
2. RIPA裂解液的裂解产物中经常会出现一小团透明胶状物, 属常见现象。该透明胶状物为含有基因组DNA等的复合物。在不检测与基因组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。

### ● 使用说明:

#### 1. 准备RIPA裂解液:

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1/100体积的100 mM PMSF, 使PMSF的最终浓度为1 mM。

**注: 进行明胶酶谱实验提取蛋白样品时, 不要添加EDTA或EGTA, 以免螯合掉MMP活性需要的二价阳离子; 蛋白酶抑制剂也要选择性添加, 不要添加金属蛋白酶抑制剂, 可以添加PMSF (丝氨酸蛋白酶抑制剂)。**

#### 2. 细胞蛋白提取:

- 2.1 贴壁细胞: 去除培养液, 加入适量1×PBS, 轻柔漂洗一遍, 不要扰动贴壁细胞。按照6孔板每孔加入100-200 μl裂解液的比例加入裂解液, 移液器吹打数下, 使裂解液和细胞充

分接触，冰上裂解细胞5分钟，用细胞刮刀刮下细胞收集于1.5 ml离心管中，冰上继续裂解15分钟，间歇混匀。

培养板规格/培养皿表面积	细胞量	RIPA推荐用量
100 mm培养皿	$1.5 \times 10^7$	0.5-1 ml
60 mm培养皿	$5 \times 10^6$	0.25-0.5 ml
35 mm培养皿	$2 \times 10^6$	0.2-0.4 ml
6孔板	$2.5 \times 10^6$	100-200 $\mu$ l
24孔板	$5 \times 10^5$	100-150 $\mu$ l
96孔板	$1 \times 10^5$	50-100 $\mu$ l

**2.2 悬浮细胞：**450 g 4℃ 离心5 min收集细胞；用适量1×PBS重悬细胞，450 g 4℃ 离心5 min收集细胞；重复漂洗细胞一次；按照细胞沉淀体积（PCV）20  $\mu$ l加入200  $\mu$ l RIPA的比例加入RIPA，混匀细胞沉淀，冰浴处理15分钟，间歇混匀。

注： $2 \times 10^6$  Jurkat细胞，其细胞沉淀体积（PCM, Packed Cell Volume）大约为20  $\mu$ l。

### 2.3 裂解细胞：

裂解混合物超声波处理（超声条件根据仪器调整，建议条件为）；如没有超声破碎仪，可以使用注射器用27G针头处理裂解物10-15次，以彻底裂解细胞。冰浴处理15分钟。

注：裂解中细胞会释放出变性的核酸，呈团状粘稠透明样，如不进行超声或针头裂解处理，会导致裂解物非常粘稠，大大降低蛋白提取的得率和纯度。

### 2.4 离心收集上清：

充分裂解后，4℃ 16000 g离心10分钟，取上清，即可进行后续的PAGE、Western和免疫沉淀等操作。

## 3. 组织样品蛋白提取：

3.1 手术切除的组织块迅速置于预冷的生理盐水中，漂洗数次，洗净组织血迹，用滤纸吸干组织表面液体，将组织切成细小的碎片。

3.2 按照每20 mg组织加入200  $\mu$ 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。）

3.3 用玻璃匀浆器冰浴匀浆5-10次，收集匀浆后的裂解混合物，超声波处理（超声条件根据仪器调整，建议条件为）；如没有超声破碎仪，可以使用注射器用27G针头处理裂解物10-15次，以彻底裂解细胞。裂解物冰浴处理15分钟。

注：裂解中细胞会释放出变性的核酸，呈团状粘稠透明样，如不进行超声或针头裂解处理，会导致裂解物非常粘稠，大大降低蛋白提取的得率和纯度。

3.4 充分裂解后，4℃ 16000 g离心10分钟，取上清，即可进行后续的PAGE、Western和免疫沉淀等操作。