# 产品简介：

**RIPA 裂解液(中)**

多种成分均可以从细胞中提取总蛋白，如 Triton、SDS、NP-40 等。RIPA 裂解液（中） (RIPA Lysis Buffer)是采用一种经典的细胞组织快速裂解并获得总蛋白的裂解液，其裂解强度大于 NP-40 裂解液、RIPA 裂解液(弱)。所获得的蛋白质可用于 Western，免疫沉淀(Immunol Precipitation，IP)等。

Medium RIPA Lysis Buffer 主要由 Tris 、NP-40、sodium deoxycholate 等组成， 并含有多种蛋白酶抑制剂成分，可以有效抑制蛋白的降解，并维持原有的蛋白间相互作用。

# 产品组成：

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **编号**  **名称** | **PS0012** | **Storage** |
| Medium RIPA Lysis Buffer | 100ml | 4℃ |
| PMSF(100mM) | 1.5ml | 4℃ |
| 使用说明书 | 1 份 | |

**操作步骤**(仅供参考)**：**

## (一)贴壁培养细胞

1、取Medium RIPA Lysis Buffer 置室温溶解混匀，加入 PMSF，使 PMSF 终浓度为 1mM。

2、去除贴壁细胞的培养液，用 PBS、NS 或无血清培养液清洗 1 次，低速离心，弃上清， 留取沉淀。

3、按照 6 孔板每孔加入 150～250μl 含有 PMSF 的裂解液的比例，加入 Medium RIPA Lysis Buffer。移液器轻轻吹打，使裂解液和细胞充分接触。置于冰上或 4℃裂解 15～ 30min，通常裂解液作用于细胞 1～3 秒内，细胞就会被裂解。通常 6 孔板每孔细胞加入 100μl 解液已经足够，如果细胞密度很高可以适当加大裂解液的用量到 200～250μl。

4、10000～12000g，4℃离心 5～10min(如无低温离心机，室温下离心亦可)，取上清。

5、进行后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

## (二)悬浮培养细胞

1、取Medium RIPA Lysis Buffer 置室温溶解混匀，加入 PMSF，使 PMSF 终浓度为 1mM。

2、低速离心悬浮细胞，弃上清，收集沉淀。

3、用手指轻弹细胞，使其松散。按照 6 孔板每孔细胞加入 150～250μl 含有 PMSF 的裂解液的比例，加入 Medium RIPA Lysis Buffer。通常 6 孔板每孔细胞加入 150μl 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 200～250μl。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。

4、10000～12000g，4℃离心 5～10min(如无低温离心机，室温下离心亦可)，取上清。

5、进行后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

## (三)组织样本

1、取Medium RIPA Lysis Buffer 置室温溶解混匀，加入 PMSF，使 PMSF 终浓度为 1mM。

2、把组织剪切成细小的碎片，越小越好。

3、取在液氮或超低温冰箱中冷冻 30min 以上的组织，迅速用液氮研磨，研磨过程尽量控制在 1～2min 之内，以减少蛋白的降解。

4、按照每20mg 组织加入150～250μl裂解液的比例加入含有PMSF 的裂解液。冰上或4℃ 裂解 15～30min。

5、步骤 3、4 亦可以采用如下过程：按照每 20mg 组织加入 150～250μl 裂解液的比例， 加入含有 PMSF 的 Medium RIPA Lysis Buffer。用玻璃匀浆器或组织研磨器匀浆，直至充分裂解，该过程尽量控制在 1～2min 之内，以减少蛋白的降解。

6、10000～12000g，4℃离心 5～10min(如无低温离心机，室温下离心亦可)，取上清。

7、进行后续的 PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

# 注意事项：

1、去除贴壁细胞的培养液后，如果血清中的蛋白没有干扰，可以不用清洗。

2、如果裂解不充分可以适当增加裂解液的用量，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、如果细胞量较多，必需分装成 50～100 万细胞/离心管，然后再裂解。大团的细胞较难裂解充分，而少量的细胞由于裂解液容易和细胞充分接触，相对比较容易裂解充分。

4、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。

5、Medium RIPA Lysis Buffer 含有 特殊成分，在低温情况下有可能出现浑浊现象，可 37℃水浴促其溶解，不会影响使用效果；溶解时间不易过长，避免有效成分失效。6、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。

7、细胞裂解的操作步骤，应置于冰上或 4℃进行。

**有效期：** 12 个月有效。