

RIPA（强）裂解液产品说明书

一、产品信息

产品名称	产品货号	规格
RIPA（强）裂解液	GW3000B	100ml

二、保存条件

2-8℃保存，一年有效。

三、产品介绍

RIPA（Radio Immunoprecipitation Assay）裂解液是一种经典的动物组织 / 细胞快速裂解液，对细胞膜、胞浆亚组分、胞核成分均有较强裂解作用。使用 RIPA 制备的蛋白提取物适用于后续的 Western Blotting 和免疫共沉淀（IP）的研究。

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。

RIPA（强）裂解液含有较高浓度的去垢剂（detergent），对 Bradford 蛋白测定有较大的影响，因此不能用 Bradford 法测定蛋白含量。可以使用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒进行蛋白测定。

四、操作步骤

1、试剂准备

取适当量的裂解液，在使用前数分钟内将蛋白酶抑制剂复合物或 / 和磷酸酶抑制剂复合物按照 1: 50 加入裂解液中，或者使用 100mM 的 PMSF，并使 PMSF 的最终浓度为 1mM。

2、细胞 / 组织的裂解

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 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。如果用于 ChIP，初步裂解后需在冰浴上继续裂解 10 分钟；

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 μ 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。如果细胞量较多，必需分装成 50-100 万细胞 / 管，然后再裂解。充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。如果用于 ChIP，初步裂解后需在冰浴上继续裂解 10 分钟。

对于组织样品：用组织剪将组织剪成碎片后，按照每 20mg 组织加入 150-250 μ L 裂解液的比例加入裂解液，并使用玻璃匀浆器匀浆，直至充分裂解。如果用于 ChIP，初步裂解后需在冰浴上继续裂解 10 分钟；

3、蛋白样品收集

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 ChIP 等操作。

注：

1、裂解液用量说明：对培养细胞来说，通常 6 孔板每孔细胞加入 150 μ 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 μ L 或 250 μ L。如果用于 ChIP，建议 6 孔板每孔细胞至少加入 200 μ L 裂解液。对于组织样品，通常每 20mg 组织中加入 150-250 μ L 裂解液，但是对于蛋白含量较高的组织可以增加到 300-400 μ L。

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- κ B、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。

五、注意事项

- 1、为取得最佳的使用效果，可以适当分装后-20℃保存使用，避免过多的反复冻融；
- 2、裂解样品的所有步骤都需在冰上或 2~8℃进行。
- 3、仅供研究使用

六、温馨提示：

为了您的自身安全，使用试剂前，请做好防护，如穿实验服，带手套等。

官方网址：www.genesion.com.cn

公司邮箱：GenXion@vip.qq.com

订货热线：4006-169-114、020-84224925

