

## RIPA 裂解液 (弱)

### RIPA Lysis Buffer (Weak)

#### 包装清单

Cat No.	组分	包装规格-100mL
MCK-0016	RIPA 裂解液 (弱)	100 mL
	说明书	1 份

#### 产品简介

默科的 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 PAGE、Western、免疫沉淀(immunol precipitation, IP)、免疫共沉淀(co-IP)和 ELISA 等。本产品可以用于动物、植物的细胞或组织样品，也可以用于真菌或细菌样品。

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。

RIPA 裂解液(弱)的主要成分为 50mM Tris(pH7.4), 150mM NaCl, 1% NP-40, 0.25% sodium deoxycholate, 以及 sodium orthovanadate, sodium fluoride, EDTA, leupeptin 等多种抑制剂。可以有效抑制蛋白降解。

用 RIPA 裂解液裂解得到的蛋白样品，可以用默科生产的 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 法测定由本裂解液裂解得到样品的蛋白浓度。

#### 保存条件

-20°C 保存，有效期一年。

#### 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。
2. 需自备 PMSF。
3. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4°C 进行。
4. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 使用说明

##### 1.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，或者根据实验需要加入适当的上述蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物。
- (2) 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 150-250μL 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。通常裂解液接触动物细胞 1-2 秒后，细胞就会被裂解。植物细胞宜在冰上裂解 2-10min。
- 对于悬浮细胞：离心收集细胞，轻轻 vortex 或者弹管底以把细胞尽量分散开。按照 6 孔板每孔细胞加入 150-250μL 裂解液的比例加入裂解液。轻弹管底以充分裂解细胞。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，然后再裂解。
- 对于细菌或酵母：对于 1mL 菌液或酵母液，离心去上清，如果有必要可以使用 PBS 洗涤一次，充分去除液体后，轻轻 vortex 或者弹管底以把细菌或酵母尽量弹散。加入 100-200μL 裂解液，轻轻 vortex 或者弹管底以混匀，冰上裂解 2-10min。如果希望获得更好的裂解效果，细菌和酵母可以分别使用溶菌酶和破壁酶(Lyticase)消化，然后再使用本裂解液进行裂解。
- 裂解液用量说明：通常 6 孔板每孔细胞或者 1mL 的菌液或酵母液中的细菌和酵母量加入 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 200μL 或 250μL。每 100 万动物细胞用 100μL 本产品裂解后获得的上清，其蛋白浓度约为 2-4mg/mL，不同细胞有所不同。
- (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。

##### 2.对于组织样品

- (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，或者根据实验需要加入适当的上述蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物。
- (3) 按照每 20mg 组织加入 150-250μL 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。)



默科南京

Hotline: 025-69867707

(4) 用玻璃匀浆器匀浆，或使用手持式组织研磨仪研磨，直至充分裂解。也可以把组织样品冷冻后液氮研磨，研磨充分后加入裂解液进行裂解。

(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。每 20mg 冻存的小鼠肝脏组织用 200 $\mu$ L 本裂解液裂解后获得的上清，其蛋白浓度约为 15-25mg/mL，不同状态的不同组织有所不同。

(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，不必使用匀浆器或研磨设备，缺点是不如匀浆或研磨那样裂解得比较充分。

**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。