

Tissue/Cell RIPA Lysis Buffer (Medium)

组织/细胞RIPA裂解液（中）

目录号

GLS10020

产品组成

组分	规格
Tissue/Cell RIPA Lysis Buffer (Medium)	100 mL
PMSF(100 mM)	1.5 mL

保存条件

-20°C 保存12个月。

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，主要用于从动物组织和动物细胞中抽取的可溶性蛋白。其配方有很多种，根据裂解液的强度大致可以分为强、中、弱三类。

本产品是一种采用经典的组织细胞快速裂解并获得总蛋白的裂解液，裂解程度中等，其裂解强度大于RIPA裂解液（弱）、NP-40裂解液。裂解得到的蛋白样品可用于常规的PAGE、免疫沉淀（Immunol Precipitation, IP）、Western等。本产品含有蛋白酶抑制剂成分，可有效抑制蛋白降解，维持原有的蛋白间相互作用。

用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。但由于含有较高浓度的去垢剂，因此，不能用Bradford法测定由本裂解液裂解得到样品的蛋白浓度。

适用范围

本产品可以用于动物的细胞或组织样品。

注意事项

1. 溶解RIPA Lysis Buffer时，应尽量缩短溶解时间，避免有效成分失效；
2. 如发现RIPA有沉淀，请放室温半小时或者常温水浴使沉淀溶解；

本产品仅供科研使用

3. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4°C 进行；
4. 关于裂解液的选择，也需要通过一些预实验来摸索最佳的适合您实验条件的裂解液。

使用方法

一、贴壁细胞

1. 根据使用量，取每 1 mL RIPA 加入 10 μ L PMSF，使PMSF最终浓度为 1 mM（PMSF现用现加）；
2. 去除贴壁细胞的培养液，用PBS、生理盐水或无血清培养液清洗一遍（如果血清中的蛋白没有干扰，可以不洗），低速离心，弃上清，收集细胞；
3. 按照 6 孔板每孔加入 150~250 μ L 裂解液的比例，加入含有PMSF的裂解液。用移液枪轻轻吹打数下，使裂解液和细胞充分接触。置于冰上或 4°C 裂解 15~10 min。不同样品有差异，根据实际情况调整，通常裂解液接触细胞 1~3 s 后，细胞就会被裂解；

注意：通常 6 孔板每孔加入 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。

4. 充分裂解后，10,000~12,000 g，4°C 离心 5~10 min（如无低温离心机，室温离心亦可），取上清进行后续的SDS-PAGE、Western和免疫沉淀等操作。

二、悬浮细胞

1. 根据使用量，取每 1 mL RIPA 加入 10 μ L PMSF，使PMSF最终浓度为 1 mM（PMSF现用现加）；
2. 低速离心，弃上清，收集细胞，用手指单击管底以把细胞分散开；
3. 按照 6 孔板每孔加入 150~250 μ L 裂解液的比例，加入含有PMSF的裂解液，再用手指轻弹以充分裂解细胞；

注意：

- 1) 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；
- 2) 通常 6 孔板每孔加入 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。
4. 充分裂解后，10,000~12,000 g，4°C 离心 5~10 min（如无低温离心机，室温离心亦可），取上清进行后续的SDS-PAGE、Western和免疫沉淀等操作。

三、组织样品

1. 根据使用量，取每 1 mL RIPA 加入 10 μ L PMSF，使PMSF最终浓度为 1 mM（PMSF现用现加）；

2. 把组织剪切成细小的碎片（或取在液氮或超低温冰箱中冷冻 30 min 以上的组织，迅速用液氮进行研磨，研磨时间尽量控制在 1~2 min 内）；

注意：如果组织样品非常细小，可适当剪切后直接加入含有PMSF的裂解液，通过剧烈涡旋使样品裂解，离心取上清后直接用于后续实验，但可能会存在裂解不充分现象。

3. 按照每 20 mg 组织加入 150~250 μ L 裂解液的比例，加入含有PMSF的裂解液；
4. 冰上或 4 $^{\circ}$ C 裂解 15~30 min（或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 1~2 min 内）；

注意：如果裂解不充分可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。

5. 充分裂解后，10,000~12,000 g，4 $^{\circ}$ C 离心 5~10 min（如无低温离心机，室温离心亦可），取上清进行后续的SDS-PAGE、Western和免疫沉淀等操作。

常见问题与解决办法

Q1：RIPA裂解液的裂解产物中经常会出现透明胶状物？

A1：

此胶状物为含有基因组DNA等的复合物，属正常现象，可根据不同实验依照如下选择操作：

- 1) 当目标蛋白与基因组DNA结合不紧密，可直接离心裂解产物，取上清液用于后续实验；
- 2) 当目标蛋白与基因组DNA结合特别紧密，可通过超声处理打碎打散该透明胶状物，离心取上清用于后续实验；
- 3) 如果检测一些常见的转录因子（如NF-kappaB、p53等），通常不必进行超声处理，就可检测到这些转录因子。