



RIPA 裂解液

Cat.#	Size	Storage
RW0005-50ml	50ml	室温保存
RW0005-100ml	100ml	室温保存

产品简介

RIPA 裂解液是一种经典的细胞组织快速裂解液，对动物细胞膜、胞浆、胞核成分均有较强的裂解作用，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。

RIPA 裂解液的主要成分为10 mM Tris-HCl (pH 8.0), 150 mM NaCl, 1% Triton X-100, 0.5% Sodium deoxycholate, 0.1% SDS, 1mM EDTA (pH 8.0)等。本产品需要和常规的蛋白酶抑制剂一起使用，以达到更好的提取效果；可选配本公司PMSF (RW0101) 或抑制更全面的蛋白酶抑制剂cocktail (RW0102)。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。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。

使用说明

1、使裂解液充分融解，混匀，取适当量的裂解液，在使用前数分钟内加入 蛋白酶抑制剂 (PMSF或cocktail)，根据具体实验需求或抑制剂说明确定蛋白酶抑制剂的最终浓度。

2、根据样品的类型进行如下操作：

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（若血清中的蛋白没有干扰，可不洗）。按照 6 孔板每孔加入 150-250ul 裂解液的比例加入裂解液。用移液器吹打数下，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。

对于悬浮细胞：离心收集细胞，去除培养基，用手指把细胞用力弹散，按照 6 孔板每孔细胞加入150-250ul 裂解液的比例加入裂解液。再用手轻轻弹以充分裂解细胞。充分裂解后应无明显的细胞沉淀。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。

对于组织样品：把组织剪切成细小的碎片。按照每 20mg 组织加入 150-250ul 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。）使用玻璃匀浆器匀浆，直至充分裂解。

3、样品充分裂解后，4 C 10000-14000g 离心3-5 分钟，取上清，即可进行后续的 PAGE、Westernblot、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

裂解液用量说明：通常6 孔板每孔细胞加150ul 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 或250ul。

注意：RIPA 裂解液的裂解产物中经常会出现透明胶状物，其主要成分为基因组DNA，当检测的目标蛋白不与基因组DNA 紧密结合，可以直接离心裂解产物，取上清液用于后续实验；如果目的蛋白与基因组DNA 结合非常紧密，可通过超声处理打碎打散透明胶状物，随后离心取上清用于后续实验。

注意事项

- 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或cocktail。
- 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4 C 进行。
- 可能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。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

RIPA 裂解液存在的潜在使用风险

- 使用 RIPA 裂解液提取的蛋白图谱并非完整。
- 不可溶组分中丢失的蛋白质是不成比例的，非选择性和不可预测的。
- 研究证实使用 RIPA 进行细胞凋亡研究会产许多偏差数据。
- 由于蛋白丢失，提取的蛋白质的数量和比例与细胞或组织中实际存在的蛋白质的数量和比例存在偏差，从而导致实验数据偏差，特别是涉及定量和半定量实验时。

相关产品

- 【RW0102】 蛋白酶抑制剂
- 【RW0103】 磷酸酶抑制剂
- 【RW0201】 BCA蛋白定量
- 【SD-001/SN-002】 Minute™ 动物细胞/组织总蛋白提取试剂盒（无蛋白丢失，高得率）
- 【SM-005】 Minute™ 质膜蛋白和细胞组分分离试剂盒