RAPI 裂解液(强) 说明书

产品包装:

产品编号	产品内容	包装规格
YK2233	**RIPA 裂解液（强）**	100mL

产品简介:

- RIPA 裂解液(RIPA Lysis Buffer)是一种常用的细胞/组织快速裂解液。由 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 等实验。
- RIPA 裂解液的配方有很多种，本品根据裂解强度分类分为 RPIA 强，主要成分为 50mM Tris(pH 7.4)，150mM NaCl，1% Triton X-100，0.1% SDS，1% sodium deoxycholate，以及 sodium orthovanadate，EDTA，leupeptin 等多种抑制剂。可以有效抑制蛋白降解。
- 本产品可以用于动植物的细胞及组织样品，也可以用于真菌或细菌样品。用本品提取的得到的蛋白样品，可使用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度。由于本品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:

4℃保存，半年有效，-20℃保存 1 年有效，避免反复冻融。

操作步骤:

对于培养细胞样品：

a. 轻柔混匀，取适当量的裂解液，在使用前数分钟加入适当的蛋白酶及磷酸酶抑制剂混合物。

b. **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（含血清的培养液中含有较多蛋白，会干扰定量结果），按照 6 孔板每孔加入 150-250μL 裂解液的比例加入裂解液。用枪吹打混匀，使裂解液和细胞充分接触，在冰上裂解 2-15min 后即可进行离心操作。

C. **对于悬浮细胞：**离心收集细胞，用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗一遍以去除培养液，轻轻涡旋或者弹击管底使得细胞分散开，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。

充分裂解后的细胞应没有明显的细胞沉淀。如果细胞量较多，必需分装成 5×10^6-1×10^7 个细胞每管，然后再进行裂解。

d. **对于细菌或酵母：**对于 1ml 菌液或酵母液，离心去上清，再用 PBS 洗涤一次，充分去除液体后，轻轻涡旋或者弹击管底以把细菌或酵母尽量弹散。加入 100-200μL 裂解液，轻轻涡旋或者弹击管底以混匀，冰上裂解 5-10min。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消化，然后再使用本裂解液进行裂解，也可使用超声促进裂解。

e. **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 10^7 个动物细胞用 100μL 本产品裂解后获得的上清，其蛋白浓度约为 1-4mg/mL，不同细胞有所不同。

地址：西安市沣西新城联东U谷•沣西科技创新谷2号楼8楼
电话： 029-83298496
网址：www.sxyksw.com

f. 充分裂解后，4℃下 10000-14000g 离心 3-5 分钟，取上清，即为蛋白样本，用于进行后续的 PAGE、Western 和免疫沉淀等操作。

对于组织样品：

a. 使用剪刀将组织剪切成细小的碎片。

b. 取适当量的裂解液,在使用前数分钟内根据实验需要加入适当的蛋白酶或磷酸酶抑制剂混合物。

c. 按照每 10mg 组织加入 150-250μL 裂解液的比例加入裂解液。（可适当多加入裂解以保证裂解充分，裂解充分的条件下减少裂解液的用量可以提高蛋白浓度。）

d. 根据组织特性使用适合的方式将组织研磨打散为匀浆，直至充分裂解。使用液氮研磨可裂解难以研磨的组织，研磨充分后加入裂解液进行裂解。

e. 4℃静置 10min 左右以充分裂解组织，在 4℃条件下 10000-14000g 离心 5-10 分钟，取上清即为蛋白样本，可进行后续的 PAGE、Western 和免疫沉淀等操作。

f. 如果组织样品本身非常细小,可以剪碎后直接加入裂解液裂解,通过强烈涡旋使样品裂解充分。然后同样离心取上清，用于后续实验。此方法裂解可能不够充分。

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或反复冻融打碎打散该透明胶状物，随后离心取上清用于后续实验。

注意事项:

- 如果需要长期保存本品可分装后冷冻于-20℃冰箱，每次取一份使用，以保证更好的裂解效果。
- 本品使用前应按需求加入蛋白酶抑制剂，各项操作步骤需在冰上或 4℃进行。
- 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。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。