

RIPA 裂解液（强）

简介：

多种成分均可以从细胞中提取总蛋白,如 Triton、SDS、NP-40 等。RIPA 裂解液(强) (Enhanced RIPA Lysis Buffer)是采用一种经典的裂解方法获得总蛋白的裂解液。所获得的蛋白质可用于 PAGE 电泳、Western、免疫沉淀(Immunol Precipitation, IP)和免疫共沉淀(co-IP)等。Weak RIPA Lysis Buffer 主要由 Tris 、NP-40、sodium deoxycholate 等组成,并含有多种蛋白酶抑制剂成分,可以有效抑制蛋白的降解,并维持原有的蛋白间相互作用。

伊势久 RIPA 裂解液（强）的主要由 Tris、NP40、deoxycholate 等组成,有多种蛋白酶抑制剂成分,可以有效抑制蛋白的降解,并维持原有的蛋白间相互作用。

组成：

产品名称	PC012-100ml	PC012-500ml
RIPA 裂解液（强）	100ml	500ml
PMSF100mM	1.5ml	5ml
使用说明书	一份	

存储条件：

RIPA 裂解液保存于-20℃。12 个月有效期。

操作步骤(仅供参考)：

无需配制, 直接使用。

(一)贴壁培养细胞

- 1、取 Enhanced RIPA lysis buffer 室温溶解混匀,使用前取适量裂解液加入 PMSF,使终浓度为 1mM。
- 2、去除贴壁细胞的培养液,低速离心,弃上清。
- 3、按照 6 孔板每孔加入 150~250 ul 含有 PMSF 的裂解液的比例,加入 RIPA Lysis Buffer。移液器轻轻吹打,使裂解液和细胞充分接触。置于冰上或 4℃裂解。通常裂解液作用于细胞内,细胞就会被裂解/如果是所提蛋白样品用于 CHIP,应置于冰上或 4℃裂解。通常裂解液作用于细胞 1~3 秒内,细胞就会被裂解。
- 4、离心(如无低温离心机,室温下离心亦可),取上清。
- 5、进行后续的 Western、染色质免疫共沉淀(ChIP)等操作。。
- 取 Enhanced RIPA Lysis Buffer 室温溶解混匀,使用前取适量裂解液加入 PMSF,使终浓度为 1mM。
- 2、去除贴壁细胞的培养液,低速离心,弃上清,留取沉淀。



- 3、按照 6 孔板每孔加入 150~250 μ l 含有 PMSF 的裂解液的比例加入 Enhanced RIPA Lysis Buffer。移液器轻轻吹打,使裂解液和细胞充分接触。通常裂解液作用于细胞内,细胞就会被裂解/如果是所提蛋白样品用于 CHIP,应置于冰上或 4 $^{\circ}$ C 裂解。
- 4、离心(如无低温离心机,室温下离心亦可),取上清。
- 5、进行后续的 Western、染色质免疫共沉淀(ChIP)等操作。

(二)悬浮培养细胞

- 1、取 Enhanced RIPA Lysis Buffer 置于室温溶解混匀后,使用前取适量裂解液加入 PMSF,使其最终浓度为 1mM。
- 2、低速离心悬浮细胞,弃上清,收集沉淀。
- 3、用手指轻弹细胞,使其松散。按照 6 孔板每孔细胞加入 150~250 μ l 含有 PMSF 的裂解液的比例,加入 Weak RIPA Lysis Buffer。
- 4、4 $^{\circ}$ C 离心(如无低温离心机,室温下离心亦可),取上清。
- 5、进行后续的 Western、染色质免疫共沉淀(ChIP)等操作。

(三)组织样本

- 1、取 Enhanced RIPA Lysis Buffer 置于室温溶解混匀,使用前取适量裂解液加入 PMSF,使其最终浓度为 1mM。
- 2、把组织剪切成细小的碎片,越小越好。
- 3、取在液氮或超低温冰箱中冷冻以上的组织,迅速用液氮研磨,研磨过程尽量控制在 1~2min 之内,以减少蛋白的降解。
- 3、按 20mg 组织加入 150~250 μ l 裂解液的比例加入含有 PMSF 的裂解液。冰上或 4 $^{\circ}$ C 裂解。
- 4、离心(如无低温离心机,室温下离心亦可),取上清。
- 5、进行后续的 Western、染色质免疫共沉淀(ChIP)等操作。

注意事项:

- 1、去除贴壁细胞的培养液后,如果血清中的蛋白没有干扰,可以不用清洗。
- 2、如果裂解不充分可以适当增加裂解液的用量,如果需要高浓度的蛋白样品,可以适当减少裂解液的用量。
- 3、在培养细胞的裂解中,如果细胞量较多,必需分装成 50-100 万细胞/离心管,然后再裂解。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。
- 4、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。
- 5、溶解 Enhanced RIPA Lysis Buffer 时,应尽量缩短溶解时间,避免裂解液中的有效成分失效。
- 6、细胞裂解的操作步骤,应置于冰上或 4 $^{\circ}$ C 进行。

