

RIPA(强)裂解液(带有抑制剂)

RIPA (Strong) Lysis Buffer(with inhibitor)

产品信息

产品名称	产品编号	规格
RIPA(强)裂解液(带有抑制剂)	DY50002	50mL

产品描述

RIPA (Radio Immunoprecipitation Assay) 裂解液是一种经典的动物组织/细胞快速裂解液，对细胞膜、胞浆亚组分、胞核成分均有较强裂解作用。使用 RIPA 制备的蛋白提取物适用于后续的 Western Blotting 和免疫共沉淀(IP)的研究。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 (强) 裂解液含有较高浓度的去垢剂(detergent)，对 Bradford 蛋白测定有较大的影响，因此不能用 Bradford 法测定蛋白含量。可以使用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒进行蛋白测定。

产品组分

货号	名称	规格
DY50002-A	RIPA 裂解液	50ml
DY50002-B	50× 磷酸酶抑制剂	1ml
DY50002-C	100mM PMSF	1ml

保存条件

裂解液保存于 2~8℃，其他保存于-20℃，一年有效。

操作流程(仅供参考)

1、试剂准备

取适量的裂解液，在使用前数分钟内将蛋白酶抑制剂复合物或/和磷酸酶抑制剂复合物按照比例加入裂解液中，或者使用 100mM 的 PMSF，并使 PMSF 的最终浓度为 1mM。

2、细胞/组织的裂解

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。通常裂解液接触细胞 1-2 秒后，细胞就会被裂解。如果用于 ChIP，初步裂解后需在冰浴上继续裂解 10 分钟；对于悬浮细胞：离心收集细胞，把细胞用力弹散。按照 6 孔板每孔细胞加入 150-250μL 裂解液的比例加入裂解液。再用手指轻弹以充分裂解细胞。如果细胞量较多，必需分成 50-100 万细胞/管，然后再裂解。充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。如果用于 ChIP，初步裂解后需在冰浴上继续裂解 10 分钟。

对于组织样品：用组织剪将组织剪成碎片后，按照每 20mg 组织加入 150-250μL 裂解液的比例加入裂解液，并使用用玻

璃匀浆器匀浆，直至充分裂解。如果用于 ChIP，初步裂解后需在冰浴上继续裂解 10 分钟；

3、蛋白样品收集

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 ChIP 等操作。

注意事项：

1、裂解液用量说明：对于培养细胞来说，通常 6 孔板每孔细胞加入 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。如果用于 ChIP，建议 6 孔板每孔细胞至少加入 200 μ L 裂解液。对于组织样品，通常每 20mg 组织中需要加入 150-250 μ L 裂解液，但是对于蛋白含量较高的组织可以增加至 300-400 μ L。

2、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。

本产品仅作科研用途