



RIPA裂解液(弱)

说明书

【产品简介】

诺伦生产的RIPA裂解液(RIPA Lysis Buffer)是一种传统的细胞组织快速裂解液。RIPA裂解液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(弱)的主要成分为50mM Tris (pH7.4), 150mM NaCl, 1% NP-40, 0.25% sodium deoxycholate, 以及sodium orthovanadate, sodium fluoride, EDTA, leupeptin等多种抑制剂。可以有效抑制蛋白降解。

用RIPA裂解液裂解得到的蛋白样品,可以用诺伦生产的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。

【试剂盒组成】

试剂盒组成	LP003
RIPA裂解液(弱)	100ml
说明书	1份

【运输及储存条件】

试剂运输可在4-8℃环境下进行。-20℃保存,一年有效。

【注意事项】

1. 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。
2. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或4℃进行。
3. 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

【使用说明】

对于培养细胞样品:

1. 融解RIPA裂解液,混匀。取适当量的裂解液,在使用前数分钟内加入PMSF,使PMSF的最终浓度为1mM。
2. 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150-250微升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。

对于悬浮细胞:离心收集细胞,用手指把细胞用力弹散。按照6孔板每孔细胞加入150-250微升裂解液的比例加入裂解液。再用手轻弹以充分裂解细胞。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。

3. 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、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。裂解液用量说明:通常6孔板每孔细胞加入150微升裂解液已经足够,但如果细胞密度非常高可以适当加大裂解液的用量到200微升或250微升。

对于组织样品:

1. 把组织剪切成细小的碎片。
2. 融解RIPA裂解液,混匀。取适当量的裂解液,在使用前数分钟内加入PMSF,使PMSF的最终浓度为1mM。
3. 按照每20毫克组织加入150-250微升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。)
4. 用玻璃匀浆器匀浆,直至充分裂解。
5. 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、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。



6. 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。直接裂解的优点是比较方便，不必使用匀浆器，缺点是不如使用匀浆器那样裂解得比较充分。

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。

附：诺伦生产的各种裂解液主要特点、差异和选择

首先请参考下表，了解各种裂解液的主要特点和差异。

产品编号	LP001	LP002	LP003	LP004	LP005
产品名称	RIPA 裂解液(强)	RIPA 裂解液(中)	RIPA 裂解液(弱)	NP-40 裂解液	SDS 裂解液
有效裂解成分	1% Triton X-100, 1% deoxycholate, 0.1% SDS	1% NP-40, 0.5% deoxycholate, 0.1% SDS	1% NP-40, 0.25% deoxycholate	1% NP-40	1% SDS
裂解强度	强	中	温和	温和	强
对膜蛋白的提取	很好	较好	一般	一般	很好
对胞浆蛋白的提取	很好	很好	很好	很好	很好
对核蛋白的提取	很好	较好	较好	较好	很好
胞浆磷酸化蛋白提取	很好	很好	很好	很好	很好
细胞核转录因子提取	很好	很好	很好	很好	很好
含蛋白酶抑制剂	是	是	是	是	是
含磷酸酯酶抑制剂	是	是	是	是	是
主要用途	WB, IP	WB, IP	WB, IP, co-IP	WB, IP,co-IP	WB, ChIP