

## RIPA 裂解液 (强)

### 产品信息

---

货号 ABK0001W

规格 100 mL

储存条件 4°C

### 产品简介

RIPA 裂解液 (强) 是一种经典的细胞组织快速裂解蛋白的试剂, 其裂解强度大于 NP-40 裂解液、RIPA 裂解液(中)。所获得的蛋白质可用于 Western Blot、IP 等实验。RIPA 裂解液 (强) 主要是由 Tris、NP-40、sodium deoxycholate 等组成。

### 实验步骤

#### (一) 贴壁培养细胞

- 1、取 RIPA 裂解液室温溶解混匀, 根据实验需求选择是否添加抑制剂。
- 2、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 $\mu$ L 裂解液的比例加入 RIPA 裂解液。移液器轻轻吹打, 使裂解液和细胞充分接触, 置于冰上或 4°C 裂解 15~30min。通常裂解液作用于细胞 1~3 秒内, 细胞就会被裂解。备注: 一般 6 孔板每孔细胞加入 150 $\mu$ 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 200~250 $\mu$ L。
- 3、10000~12000g, 4°C 离心 5~10min, 取上清。
- 4、进行后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

#### (二) 悬浮培养细胞

- 1、取 RIPA 裂解液室温溶解混匀, 根据实验需求选择是否添加抑制剂。
- 2、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 $\mu$ L 裂解液的比例加入 RIPA 裂解液，置于冰上或 4 $^{\circ}$ C 裂解 15~30min。充分裂解后应没有明显的细胞沉淀，如果细胞量较多，必须分装成 50-100 万细胞/管，然后再裂解。

备注：一般 6 孔板每孔细胞加入 150 $\mu$ 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 200~250 $\mu$ L。

4、10000~12000g，4 $^{\circ}$ C 离心 5~10min，取上清。

5、进行后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

### （三）组织样本

1、取 RIPA 裂解液室温溶解混匀，根据实验需求选择是否添加抑制剂。

2、把组织剪切成细小的碎片，越小越好。预先冷冻的样品用液氮研磨，研磨过程尽量控制在 1~2min 之内，以减少蛋白的降解。

3、按照每 20mg 组织加入 150~250 $\mu$ L 裂解液的比例加入裂解液。冰上或 4 $^{\circ}$ C 裂解 15~30min。

4、步骤 2、3 亦可以采用如下过程：按照每 20mg 组织加入 150~250 $\mu$ L 裂解液的比例，加入 RIPA 裂解液。用玻璃匀浆器或组织研磨器匀浆，直至充分裂解，该过程尽量控制在 1~2min 之内，以减少蛋白的降解。

5、10000~12000g，4 $^{\circ}$ C 离心 5~10min，取上清。

6、进行后续的 PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

### （四）细菌或酵母

1.将 1mL 菌液或酵母液，10000~12000g，4 $^{\circ}$ C 下离心 1-2 分钟收集菌体，沉淀用 PBS 洗涤 1-2 遍。

2.加入 100-200 $\mu$ L 裂解液，轻轻 vortex 或者弹击管底以混匀，冰上裂解 5-10min。

3.10000~12000g，4 $^{\circ}$ C 离心 5~10min，取上清。

4.进行后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

### 注意事项

1、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。

2、如果细胞量较多，必须分装成 50~100 万细胞/管，然后再裂解。

3、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。

4、溶解 RIPA 裂解液时，应尽量缩短溶解时间，避免有效成分失效。



- 5、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-KB、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。
- 6、细胞裂解的操作步骤，应置于冰上或 4°C 进行。
- 7、为了您的安全和健康，请穿戴好个人防护装备和服装进行操作。