

RIPA 裂解液（中强度）使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
ES-8149	RIPA 裂解液（中强度）	100ml
	使用说明书	1 份

【保存条件】

4℃ 保存，有效期 1 年

【概述】

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 和 ELISA 等。

RIPA 的本意是 Radio Immuno Precipitation 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高强度、中强度、低强度三类。请根据不同需求选择不同强度 RIPA 裂解液。

【使用建议】

如发现 RIPA 有沉淀，请放室温半小时或者常温水浴使沉淀溶解。根据使用量，取每 1ml RIPA 加入 10 μ l PMSF，使 PMSF 的最终浓度为 1mM。混匀备用（PMSF 现用现加）。

1. 样品前处理:

a) 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。按照 6 孔板每孔细胞量加入 150-250 μ l 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。

b) 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 孔板每孔细胞量加入 150-250 μ l 裂解液的比例加入裂解液，再用手指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。

c) 对于组织样品：把组织剪切成细小的碎片。按照每 20mg 组织加入 150-250 μ l 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)。用玻璃匀浆器匀浆，直至充分裂解。

2. 后处理：将裂解后的样品 10000-14000g 离心 3-5 分钟，取上清，即可进行后续的蛋白浓度测定、SDS-PAGE、Western blotting 和免疫沉淀等操作。

【注意事项】

1. 为了您的安全与健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
2. 本产品长时间低温存放可能会出现沉淀，可在 37°C 水浴约 10 分钟以充分溶解沉淀。沉淀完全溶解后即可正常使用。
3. 为保证最佳的使用效果，请尽量避免过多的反复冻融，可分装后使用。
4. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4°C 进行，根据需要添加不同抑制剂。
5. 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。
6. 该试剂仅用于科研领域，不宜用于临床诊断或其他用途。