



**北京博凌科为生物科技有限公司**

Beijing BLKW Biotechnology Co., Ltd.

Tel: 010-57158602/52872342/80773165 (Fax)

[Http://www.blkwbio.com/](http://www.blkwbio.com/)

E-mail: [blkwbio@blkwbio.com](mailto:blkwbio@blkwbio.com)

- ◆ RIPA裂解液
- ◆ 目录号 1912
- ◆ 使用手册
- ◆ 实验室使用，仅用于体外

---

## RIPA 裂解液

目录号：1912

目录编号	包装单位
191201	50ml
191202	100ml

### ❖ 产品介绍：

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，本产品 RIPA 裂解液的主要成分为 50mM Tris(pH7.4)，150mM NaCl，1% Triton X-100，1% sodium deoxycholate，0.1% SDS 以及 sodium orthovanadate，sodium fluoride，EDTA 等多种磷酸酶抑制剂。

### ❖ 产品储存：

4℃

### ❖ 注意事项：

1. 裂解得到的蛋白样品，由于含有较高浓度的去垢剂干扰，不能用 Bradford 法测定蛋白浓度，可以选用本公司生产的 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。
2. 用户使用前需加入蛋白酶抑制剂如 PMSF 或者根据需要再加入 leupeptin, aprotinin 等其它抑制剂。
3. 裂解液中 SDS 4℃保存易沉淀析出，使用前应该 37℃-60℃水浴重新溶解完全后回到室温使用。
4. 裂解蛋白的所有步骤都需在冰上或 4℃进行。

---

❖ **操作步骤：**（实验前请先阅读注意事项）


1. 对于培养细胞样品：

- 1) 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孔板每孔细胞加入100-200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。
- 3) **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100-200微升裂解液的比例加入裂解液。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，必须分装成50-100万个细胞/管，然后再裂解。
- 4) 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100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150微升或200微升。**

2. 对于组织样品：

- 1) 把组织剪切成细小的碎片。
- 2) 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100-200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。