

## RIPA 裂解液(中)

### 产品简介:

多种成分均可以从细胞中提取总蛋白, 如 Triton、SDS、NP-40 等, RIPA 裂解液 (中) (RIPA Lysis Buffer)是采用一种经典的细胞组织快速裂解并获得总蛋白的裂解液, 其裂解强度大于 NP-40 裂解液、RIPA 裂解液(弱), 所获得的蛋白质可用于 Western、免疫沉淀 (Immunol Precipitation, IP)等。

Leagene Medium RIPA Lysis Buffer 主要由 Tris、NP-40、sodium deoxycholate 等组成, 并含有多种蛋白酶抑制剂成分, 可以有效抑制蛋白的降解, 并维持原有的蛋白间相互作用。该试剂仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成:

名称	编号	PS0012	Storage
试剂(A): Medium RIPA Lysis Buffer		100ml	4°C
试剂(B): PMSF 溶液(100mM)		1.5ml	-20°C
使用说明书			1 份

### 操作步骤(仅供参考):

配制含有 PMSF 的 Medium RIPA Lysis Buffer: 取 Medium RIPA Lysis Buffer 置于室温平衡, 加入 PMSF, 使其终浓度为 1mM, 临用前配制, 不可长期保存。

#### (一)贴壁细胞

- 1、去除贴壁细胞的培养液, 用 PBS、NS 或无血清培养液清洗 1 次, 低速离心, 弃上清, 留取沉淀。
- 2、6 孔板每孔加入 150~250 $\mu$ l 含有 PMSF 的 Medium RIPA Lysis Buffer, 用手指轻弹细胞, 使其松散, 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, 通常裂解液作用于细胞 1~3s 内, 细胞就会被裂解, 通常 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(如无低温离心机, 室温离心亦可), 取上清。
- 4、后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

#### (二)悬浮细胞

- 1、低速离心悬浮细胞, 弃上清, 用 PBS、NS 或无血清培养液清洗 1 次, 离心留取沉淀。
- 2、下同贴壁细胞 2~4 操作步骤。

#### (三)组织样本

- 1、组织剪碎，越小越好。
- 2、放置液氮或超低温冰箱中冷冻 30min，用液氮研磨，尽量控制在 1~2min 之内以减少蛋白的降解，每 20mg 组织加入 150~250 $\mu$ l 含有 PMSF 的 Medium RIPA Lysis Buffer，冰上或 4 $^{\circ}$ C 裂解 15~30min。
- 3、亦可按照每 20mg 组织加入 150~250 $\mu$ l 含有 PMSF 的 Medium RIPA Lysis Buffer 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 2~5min 之内以减少蛋白的降解。
- 4、下同贴壁细胞 2~4 操作步骤。

### 注意事项：

- 1、去除贴壁细胞的培养液后，如果血清中的蛋白没有干扰，可以不用清洗。
- 2、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。
- 3、如果细胞量较多，必需分装成 50~100 万细胞/离心管，然后再裂解，大团的细胞较难裂解充分，而少量的细胞由于裂解液容易和细胞充分接触，相对比较容易裂解充分。
- 4、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裂解的充分。
- 5、Medium RIPA Lysis Buffer 含有 Leagene 特殊成分，在低温情况下有可能出现浑浊现象，可 37 $^{\circ}$ C 水浴促其溶解，不会影响使用效果；溶解时间不易过长，避免成分失效，4 度保存即可，长期不用亦可 -20 $^{\circ}$ C 保存。
- 6、PMSF 溶液 可置 4 $^{\circ}$ C 保存 1~2 周，-20 $^{\circ}$ C 可保存 1 年以上，室温放置 2 天即可能失效。
- 7、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。
- 8、细胞裂解的操作步骤，应置于冰上或 4 $^{\circ}$ C 进行。
- 9、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

**有效期：**12 个月有效；低温运输，按要求保存。

### 相关产品：

产品编号	产品名称
PE0080	Tris-HCl 缓冲液(1mol/L,pH6.8)
DP0013	GUS 染色液(即用型)
PW0040	Western blot 一抗稀释液
TO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)