RIPA 裂解液（强）

产品概述：

RIPA (Radio Immunoprecipitation Assay)裂解液，是一种经典的动物组织/细胞快速裂解液，对动物细胞胞膜、胞浆、胞核成分均有较强裂解作用。RIPA裂解液含有sodium orthovanadate，sodium fluoride，EDTA，leupeptin 等多种抑制剂，可以有效抑制蛋白降解，裂解得到的蛋白样品可以用于常规的 PAGE、Western、免疫沉淀(immunol precipitation，IP)、免疫共沉淀(co-IP)和 ELISA 等的研究。

产品组分：

产品名称	产品编号	规格
RIPA裂解液（强）	NGR005S	50mL
	NGR005M	100mL

储存条件：

4℃保存，≤0℃运输。有效期一年。

注意事项：

1. 本产品不含 PMSF 组分，如需检测磷酸化蛋白，则需要额外添加磷酸酶抑制剂。
2. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4°C 进行。
3. RIPA（强）裂解液含有较高浓度的去垢剂，不能用 Bradford 法测定蛋白。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

实验流程：

（一) 贴壁细胞

1. 融解 RIPA 裂解液，混匀。取适量裂解液，在使用前数分钟加入蛋白酶抑制剂混合物或 PMSF（终浓度为 1 mM）。

2. 去除细胞培养液，用预冷的 PBS 洗涤两次。按照 6 孔板每孔加入 15 ~ 200 μL 的裂解液的比例均匀加入裂解液，如果细胞密度过高可增加裂解液的量至 250 ~ 300 μL。

3. 用枪吹打数下，冰上放置 10 min，期间每隔 2 min 用枪吹打数下。细胞充分裂解后应无明显的细胞沉淀。

4. 充分裂解后，于 12000 g，4℃，离心 5 min。收集上清。

（二) 悬浮细胞

1. 融解 RIPA 裂解液，混匀。取适量裂解液，在使用前数分钟加入蛋白酶抑制剂混合物或 PMSF（终浓度为 1 mM）。

2. 离心收集细胞（0.5 ~ 2×10 7 ）于 1.5mL 离心管中，用预冷的 PBS 洗涤两次。

3. 用手指把细胞用力弹散，按照 6 孔板每孔加入 15 ~ 200 μL 的裂解液的比例均匀加入裂解液，如果细胞密度过高可增加裂解液的量至 250 ~ 300 μL。

4. 用枪吹打数下，冰上放置 10 min，期间每隔 2 min 用枪吹打数下。细胞充分裂解后应无明显的细胞沉淀。

5. 充分裂解后，于 12000 g，4℃，离心 5 min。收集上清。

(三) 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。取适量裂解液，在使用前数分钟加入蛋白酶抑制剂混合物或 PMSF（终浓度为 1 mM）。

3. 按照每 100 mg 组织加入 1 mL 裂解液的比例加入裂解液（如裂解不充分可适当增加裂解液，如果需要增加蛋白浓度可适当减少使用的裂解液体积）。

4. 用匀浆器匀浆，直至充分裂解。

5. 充分裂解后，于 12000 g，4℃离心 5 min。收集上清。

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。