

## RIPA 裂解液(强,无抑制剂)

### 产品简介

多种成分均可以从细胞中提取总蛋白，例如 Triton、SDS、NP-40 等，RIPA 裂解液(强)(Enhanced RIPA Lysis Buffer, Without Inhibitors)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(中)，所获得的蛋白质可以用于 Western，免疫沉淀(Immunol Precipitation, IP)等。

Enhanced RIPA Lysis Buffer Without Inhibitors 主要由 Tris、NP-40、sodium deoxycholate 等组成，不含蛋白酶和磷酸酶抑制剂，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	Storage
	Enhanced RIPA Lysis Buffer Without Inhibitors	ADS0013S0
使用说明书	1 份	

### 操作步骤(仅供参考)

#### (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 Enhanced RIPA Lysis Buffer Without Inhibitors，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 Enhanced RIPA Lysis Buffer Without

Inhibitors, 冰上或 4°C裂解 15 ~ 30min。

- 3、亦可按照每 20mg 组织加入 150 ~ 250 μl Enhanced RIPA Lysis Buffer Without Inhibitors 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、Enhanced RIPA Lysis Buffer Without Inhibitors 含有特殊成分, 在低温情况下有可能出现浑浊现象, 可 37°C水浴促其溶解, 不影响使用效果; 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°C保存。
- 6、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。
- 7、细胞裂解的操作步骤, 应置于冰上或 4°C进行。
- 8、添加 PMSF 等蛋白酶抑制剂, 可有效避免蛋白的降解。

**有效期:** 12 个月。低温运输, 4°C保存。