



PRODUCT INFORMATION

Fudebio-tech

FD™ RIPA Buffer (高强度)

100ml of RIPA Buffer (高强度)

#FD009

Lot: _

Store Fudebio-tech RIPA Buffer at 2-8°C

弗德生产的 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，根据其裂解液的强度大致可以分为强、中、弱三类。

RIPA 裂解液(强)的主要成分为 50mM Tris(pH 7.4), 150mM NaCl, 1% Triton X-100, 1% sodium deoxycholate, 0.1% SDS, 可配套 sodium orthovanadate, sodium fluoride, EDTA, leupeptin 等多种抑制剂。可以有效抑制蛋白降解。

用 RIPA 裂解液裂解得到的蛋白样品，可以用弗德生产的 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度。由于含有较高浓度的去垢剂，不能用 Bradford 法测定由本裂解液裂解得到样品的蛋白浓度

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。

对于培养细胞样品：

1. 融解 RIPA 裂解液，混匀。取适当量的裂解液，在使用前数分钟内加 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 孔板每孔加入 150-250 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。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 150-250 微升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。
3. 充分裂解后，10000-14000g 离心 3-5 分钟，取上清，即可进行后的 PAGE、Western 和免疫沉淀等操作。

裂解液用量说明：通常 6 孔板每孔细胞加入 150 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

对于组织样品：

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 150-250 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 PAGE、Western 和免疫沉淀等操作。
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。

Address: Xihu techPark Ruiding BuildingB505 Xihu District the City of Hangzhou Zhejiang province

Webseite: www.fdbio.net

Phone: 18814823735

弗德生物 Western Blot 优化大师