



RIPA 裂解液（中强度）说明书（简化版）

（W063-1-1）

【产品简介】

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(中) 的主要成分为 50mM Tris (pH 7.4), 150mM NaCl, 1% NP-40, 0.5% sodium deoxycholate, 0.1% SDS, 以及 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 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。

【试剂组成】

试剂编号	试剂组成	规格装量	保存条件
R1	RIPA Lysis Buffer（中强度）	100mL	2-8℃保存 有效期6个月

【操作步骤】

○ 对于培养细胞样品：

1、对于贴壁细胞：

- 小心除去贴壁细胞中的培养液；
- 用冷磷酸缓冲液清洗细胞两次；
- 对每 5×10^6 个细胞，加入 1mL RIPA 缓冲液。置于冰上 5 分钟，适当震荡以充分混合；
- 用细胞刮收集裂解液至一边，收集的裂解液转移至微离心管中，在 14000g 下离心 15 分钟以去除细胞碎片沉淀；注：可以对沉淀超声 30 秒以提高产率；
- 转移上清以用于进一步分析。



2、对于悬浮细胞：

- a. 以 2500g 离心五分钟沉淀细胞，弃去上清；
- b. 用冷磷酸缓冲液清洗细胞两次，在 2500g 离心 5 分钟沉淀细胞；
- c. 对 40mg 湿细胞沉淀（约 5×10^6 个）加入 1mLRIPA 缓冲液，用滴管吹打使细胞悬浮；

注：可以对沉淀超声 30 秒以提高产率；

- d. 轻轻在冰上震荡混合液 15 分钟，在 14000g 离心 15 分钟以去除细胞碎片沉淀；
- e. 转移上清以用于进一步分析。

○ 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，即可进行后续的 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。