

RIPA 裂解液（高强度）使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
ES-8148	RIPA 裂解液（高强度）	100mL
	使用说明书	1 份

【保存条件】

4°C保存，有效期 12 个月

【概述】

RIPA 裂解液 (Radio Immuno Precipitation Assay Buffer) 是一种经典的细胞组织快速裂解液。本品为高强度配方，含有多种离子型与非离子型去污剂（包括 1% Triton X-100、1% 脱氧胆酸钠及 0.05% SDS）。

核心优势：采用进口原料，具有极强的裂解能力，能有效提取胞浆、胞核及膜蛋白。

适用场景：主要用于 Western Blot 和 ELISA。由于含有强力变性剂，不建议用于需要维持蛋白天然构象的实验（如某些敏感的 Co-IP 或蛋白酶活性检测）。

样本兼容：广泛适用于动植物细胞及各类软硬组织。

【使用建议】

1. 准备工作：

融解：若发现沉淀，请置于室温或 37°C 快速融解，一旦融解必须立即置于冰上备用。

抑制剂添加：临用前，根据实验需求加入 PMSF 或蛋白酶抑制剂（如 ES-8135）或磷酸酶抑制剂（如 ES-8136）。

2. 样品前处理：

① **贴壁细胞：**弃去培养液，PBS 洗涤 1-2 次。按 6 孔板每孔加入 150–250 μ L 含抑制剂裂解液（参考下表）。充分吹打混匀，冰上裂解 5 分钟，期间上下颠倒混匀 2-3 次。

② **悬浮细胞：**1,000 \times g 离心 5 分钟收集细胞，弃上清后用 PBS 洗涤 1-2 次，再次离心沉淀。按比例加入含抑制剂裂解液（建议每 100 万细胞使用 150–250 μ L），充分吹打混匀，冰上裂解 5 分钟，期间上下颠倒混匀 2-3 次。

③ **组织样品：**将组织剪碎，按照每 20mg 组织加入 200–400 μ L 含抑制剂裂解液的比例加入。使用玻璃匀浆器或组织破碎仪彻底破碎，冰上静置裂解 15 分钟，期间上下颠倒混

匀 3-5 次。

3. 后处理

① **离心**：将裂解后的样品 4°C、10,000-13,000×g 条件下离心 3-5 分钟

② **收集蛋白**：取上清。推荐使用 BCA 法 (EK-5001) 测定蛋白浓度。所得蛋白样品即可进行后续 SDS-PAGE、Western Blot 等操作。

【附表：不同培养器皿的裂解液参考用量】

为了达到最佳的裂解效果（通常蛋白浓度在 2-4 mg/mL），细胞长满（100%汇合度）时建议参考下表进行加液：

培养器皿类型	培养面积 (cm ²)	细胞数量(个)	裂解液建议用量 (μL)
6 孔板 (每孔)	9.5	1×10 ⁶	150-250
3.5cm 培养皿	8	1×10 ⁶	150-250
6cm 培养皿	21	2.5×10 ⁶	400-500
10cm 培养皿	55	7×10 ⁶	1000
T25 培养瓶	25	3×10 ⁶	500

【注意事项】

1. **“胶状物”处理**：高强度 RIPA 易释放基因组 DNA，离心后可能出现透明胶状团。
常规蛋白：直接取周围清亮上清即可。
结合蛋白：若需检测与染色质紧密结合的蛋白（如组蛋白），需进行短暂超声破碎以打碎 DNA 团块。
2. **温控要求**：为防止蛋白降解，所有操作务必在冰上或 4°C 进行。
3. **兼容性说明**：本品含有 SDS，测定蛋白浓度时推荐使用 BCA 法 (EK-5001)；Bradford 法会受去污剂干扰，不建议使用。
4. **安全防护**：含有化学去污剂，请佩戴实验服及一次性手套操作。