

M5 Hiper RIPA Lysis Buffer (Medium)

中度 RIPA 细胞裂解液使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 Hiper RIPA Lysis Buffer (Medium)	100ml	MF072-plus-01

【储存条件】

2-8°C 保存。

【产品简介】

RIPA 裂解液是一种传统的组织以及细胞快速裂解液，主要用于从动物组织和哺乳动物细胞中抽取可溶性蛋白，可用于裂解贴壁细胞和悬浮细胞。按照其裂解液的强度可以分为强、中、弱三类，具体特点和差异请参考附表 2，可根据实验需求选择相应产品。经 RIPA 裂解液（中）提取的蛋白可应用于蛋白定量、Western Blot、IP 等检测分析。

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。

【注意事项】

- 为防止蛋白降解，所有的操作尽量在冰上进行。
- 使用 RIPA 裂解液得到的蛋白样品，可采用 BCA 法进行蛋白定量，以测定蛋白浓度。产品可单独向本公司订购，如：CW0014 BCA 蛋白定量试剂盒。本品含有高浓度的去垢剂，不能用 Bradford 法进行蛋白定量。
- 建议在使用 RIPA 裂解液前，向溶液中加入蛋白酶抑制剂或磷酸酶抑制剂，以防止蛋白降解，或保持蛋白的磷酸化状态。产品可单独向本公司订购，如：CW2200 蛋白酶抑制剂混合物，CW2383 磷酸酶抑制剂混合物。
- 若需获得更高浓度的蛋白，应减少哺乳动物蛋白抽提试剂的使用量。
- 对于培养瓶中的贴壁细胞，推荐先使用常规方法消化细胞，再参考悬浮细胞蛋白提取步骤操作。
- 对于离心获得的细胞，若不确定细胞体积，可根据细胞数量计算 RIPA 裂解液的使用量。如 5×10^6 个 HeLa 细胞约需加入 500 μ l RIPA 裂解液，以此类推。

【操作步骤】

细胞样品

1. 贴壁细胞蛋白抽提

- 小心倾去贴壁细胞的培养液。
- 可选步骤：若培养基中含有酚红或其他可能影响实验结果的物质，请先使用预冷的 PBS 漂洗细胞。
- 加入适量 RIPA Lysis Buffer (Medium)（使用前 2-3 分钟内加入蛋白酶抑制剂），试剂使用量请参考附表 1，在冰上用枪头吹打贴壁细胞。

表 1 贴壁细胞 RIPA 裂解液使用量推荐表

细胞培养板类型或培养面积	RIPA 裂解液使用量
100mm	500-1000 μ l
60mm	250-500 μ l
6 孔培养板	200-400 μ l/孔
24 孔培养板	100-200 μ l/孔
96 孔培养板	50-100 μ l/孔

- 4) 将裂解液转移至新的离心管中，冰上孵育 20 分钟，使细胞充分裂解。
- 5) 14000xg 离心 10 分钟。转移上清液至新管中，进行下一步分析。

2. 悬浮细胞蛋白提取

- 1) 悬浮细胞，2500xg 离心 5 分钟，弃去上清。
- 2) 可选步骤：若培养基中含有酚红或其他可能影响实验结果的物质，请使用 PBS 漂洗细胞。漂洗后的细胞悬浮液 2500xg 离心 5 分钟，弃去上清。
- 3) 加入适量 RIPA Lysis Buffer (Medium) (使用前 2-3 分钟内加入蛋白酶抑制剂)，每 5×10^6 细胞加入约 200-500 μ l RIPA Lysis Buffer ((Medium)，吹打均匀。
- 4) 冰上放置 20 分钟，使细胞充分裂解。
- 5) 14000xg 离心 10 分钟。转移上清液至新管中，进行下一步分析。

组织样品

1. 取适当的 RIPA Lysis Buffer ((Medium)，在使用前 2-3 分钟内加入蛋白酶抑制剂。
2. 称量实验组织的重量，按照 1:10 (g/ml) 的比例加入 RIPA Lysis Buffer ((Medium) 后将组织剪成细小碎片，用电动匀浆器匀浆处理。若需要浓缩的蛋白提取物，可适当减少组织蛋白抽提试剂使用量。
3. 冰上孵育 20 分钟，使细胞充分裂解。
4. 14000xg 离心 10 分钟。转移上清液至新管中，进行下一步分析。
注：RIPA 裂解液的裂解产物中可能会出现一小团透明胶状物，属正常现象。该透明胶状物为基因组。

表 2: 蛋白裂解液性能、参数比较

产品名称	RIPA 裂解液 (强) (MF072)	RIPA 裂解液 (中) (MF072-plus)	RIPA 裂解液 (弱)	SDS 裂解液
有效裂解成分	1% Triton X-100, 1% sodium deoxycholate, 0.1% SDS	1% NP-40, 0.5% sodium deoxycholate, 0.1% SDS	1% NP-40, 0.25% sodium deoxycholate	1% SDS
裂解强度	强	中	温和	强
莫蛋白提取	很好	较好	一般	很好
胞浆蛋白提取	很好	很好	很好	很好
核蛋白提取	很好	较好	较好	很好
主要用途	WB, IP	WB, IP	WB, IP, CO-IP	WB, CHIP

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。