

M5 Hiper RIPA Lysis Buffer (Weak) (弱 RIPA 细胞裂解液)

使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 Hiper RIPA Lysis Buffer (Weak)	100ml	MF1245-01

【储存条件】 裂解液保存于 2~8° C，抑制剂保存于-20° C，一年有效。

【产品简介】

RIPA (Radio Immunoprecipitation Assay) 裂解液是一种经典的动物组织/细胞快速裂解液，根据其裂解液的强度大致可以分为强、中、弱三类。其中 RIPA (弱) 裂解液对胞浆亚组分、胞核成分均有较强裂解作用，对细胞膜组分的裂解作用弱于 RIPA (强) 和 RIPA (中) 裂解液。其蛋白提取物适用于后续的 Western Blotting 和免疫共沉淀(IP)的研究。

RIPA (中) 裂解液含有较高浓度的去垢剂(detergent)，对 Bradford 蛋白测定有较大的影响，因此不能用 Bradford 法测定蛋白。但可以使用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒进行蛋白测定。

【组成成分】

RIPA (弱) 裂解液	100mL
磷酸酶抑制剂	2x1mL
PMSF	1mL



【操作步骤】

1、试剂准备

取适量的裂解液，在使用前数分钟内将蛋白酶抑制剂复合物或/和磷酸酶抑制剂复合物按照 1:50 加入裂解液中，或者使用 100mM 的 PMSF，并使 PMSF 的最终浓度为 1mM。

2、细胞/组织的裂解

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。按照 6 孔板每孔加入 150-250 μ L 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。如果用于 ChIP，初步裂解后需在冰浴上继续裂解 10 分钟；

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 μ L 裂解液的比例加入裂解液。再用手指轻弹以充分裂解细胞。如果细胞量较多，必需分装成 50-100 万细胞/管，然后再裂解。充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。如果用于 ChIP，初步裂解后需在冰浴上继续裂解 10 分钟。

对于组织样品：用组织剪将组织剪成碎片后，按照每 20mg 组织加入 150-250 μ L 裂解液的比例加入裂解液，并使用玻璃匀浆器匀浆，直至充分裂解。如果用于 ChIP，初步裂解后需在冰浴上继续裂解 10 分钟；

3、蛋白样品收集

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 ChIP 等操作。

注：

1、裂解液用量说明：对于培养细胞来说，通常 6 孔板每孔细胞加入 150 μ 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 μ L 或 250 μ L。如果用于 ChIP，建议 6 孔板每孔细胞至少加入 200 μ L 裂解液。对于组织样品，通常每 20mg 组织中需要加入 150-250 μ L 裂解液，但是对于蛋白含量较高的组织可以增加至 300-400 μ L。

2、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。

【注意事项】

- 1、为取得最佳的使用效果，可以适当分装后-20 $^{\circ}$ C 保存使用，避免过多的反复冻融；
- 2、裂解样品的所有步骤都需在冰上或 2~8 $^{\circ}$ C 进行。
- 3、为了您的自身安全，使用试剂前，请做好防护，如穿实验服，带手套等。



【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。