



RIPA Lysis Buffer (Medium)

RIPA裂解液（中）

目录号：CW2334S (100 mL)

保存条件：2-8℃

产品内容

Component	CW2334S 100 mL
RIPA Lysis Buffer(Medium)	100 mL

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

1. 为防止蛋白降解，所有的操作尽量在冰上进行。
2. 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。
3. 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。
4. 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。
5. 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。
6. 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

I 细胞样品

· 贴壁细胞蛋白抽提

1. 小心倾去贴壁细胞的培养液。
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，请先使用预冷的PBS漂洗细胞。

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), 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

Component	RIPA 裂解液使用量
100 mm	500-1,000 μ L
60 mm	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. 14,000 \times g离心10分钟。转移上清液至新管中, 进行下一步分析。

· 悬浮细胞蛋白提取

1. 悬浮细胞, 2,500 \times g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2,500 \times g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. 14,000 \times g离心10分钟。转移上清液至新管中, 进行下一步分析。

II 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. 14,000 \times g 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。

附表

表2 蛋白裂解液性能、参数比较

目录号	CW2333	CW2334	CW2335	CW2337
产品名称	RIPA裂解液（强）	RIPA裂解液（中）	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
膜蛋白提取	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