



## RIPA Lysis Buffer (Mild)

### RIPA裂解液（弱）

版本号: V220101

货号: E123

保存: 常温

运输: 常温

货号	规格
E123-01	100 ml

#### 【产品概述】

RIPA Lysis Buffer 是一类经典的细胞和组织快速裂解液，对动物细胞胞膜、胞浆、胞核成分均有较强的裂解作用，提取的蛋白样品多用于 Western blot 和 IP 等检测。RIPA 裂解液的配方有很多种，根据其裂解强度大致可以分为强、中、弱三类。

RIPA 裂解液（弱）的主要裂解成分为 1% NP-40 和 0.25% Sodium Deoxycholate，适合于免疫共沉淀检测蛋白-蛋白间相互作用。本品需要和常规的蛋白酶抑制剂联合使用，以达到更好的提取效果；本品已经含有磷酸酶抑制剂，可用于提取磷酸化蛋白。

用本产品提取得到的蛋白样品含有较高浓度的去垢剂，因此不能用 Bradford 法测定样品的蛋白浓度，但可以用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒（Cat#E162）测定蛋白浓度。

#### 【产品组分】

组分名称	规格
RIPA Lysis Buffer (Mild)	100 ml

#### 【主要成分】

50 mM TrisCl (pH7.4), 150 mM NaCl, 1% NP-40, 0.25% Sodium Deoxycholate, Sodium Orthovanadate, Sodium Fluoride 等。（不含 EDTA）

#### 【保存条件】

室温保存，保质期 12 个月。加入蛋白酶抑制剂后建议适量分装-20℃冻存，避免反复冻融。

#### 【使用方法】

用户需自备的试剂: DTT、PMSF (Cat#B111)、Aprotinin、Leupeptin、Peptinin，或商品化的蛋白酶抑制剂混合物 (Protease Inhibitor Cocktail)。

1. 室温下使 RIPA 裂解液（弱）应充分混匀。或者 40-50℃水浴加热溶解后使用。
2. 取适量 RIPA 裂解液（弱），在使用前数分钟内加入终浓度为 1 mM 的 PMSF 和 10 mM 的 DTT，并可根据目标蛋白是否易被蛋白酶降解，有选择地加入终浓度为 10 µg/ml 的 Aprotinin、Leupeptin 和/或 Peptinin。加入蛋白酶抑制剂后，建议按需分装后冻存。

*注：如果样品不够新鲜，或者提取的蛋白有被降解的情况，可在此步骤中加入适量的蛋白酶抑制剂（加入量参看您所使用蛋白酶抑制剂的产品说明）。若在第 1 步后加入了蛋白酶抑制剂，则需要按需分装冻存，避免反复冻融。*

3. 根据样品类型进行下述操作：

##### 1) 贴壁培养细胞：

- a. 去除培养液，用 PBS、生理盐水或无血清培养液清洗一遍；如果目标蛋白检测不受血清中蛋白的影响，可以不清洗细胞；
- b. 按照 6 孔板每孔加入 150-250 µl 裂解液的比例加入裂解液，用移液器吹打数下，使裂解液和细胞充分接触，通常细胞可在 1-2 s 裂解。

##### 2) 悬浮培养细胞：

- a. 离心收集细胞，吸除培养基；
- b. 按照每  $1 \times 10^6$  个细胞加入 150-250 µl 裂解液的比例加入裂解液，用移液器吹打数下，使裂解液和细胞充分接触，通常细胞可在 1-2 s 裂解。



注：加入的裂解液体积可根据细胞密度进行调整，通常通常6孔板每孔细胞只需加入150 μl 裂解液，但如果细胞密度非常高，可以适当加大裂解液的体积到200-250 μl。

3) 组织样品：

- a. 将组织剪切成细小的碎片；
- b. 按照每20 mg 组织加入150-250 μl 裂解液的比例加入裂解液；如果裂解不充分可以适当增加裂解液的用量；如果需要得到高浓度的蛋白样品，可适当减少裂解液的用量；
- c. 使用玻璃匀浆器匀浆，直至充分裂解。

注意：对非常细小的组织样品，可不必使用匀浆器；适当剪切后直接加入裂解液裂解，剧烈振荡混匀，使样品充分裂解。

4. 待样品充分裂解后，4℃下10,000-14,000 x g 离心5 min，吸取上清液，直接进行后续的PAGE、Western blot 和免疫沉淀等操作。

注意：RIPA 裂解液（弱）的裂解产物中经常会出现透明胶状物，其主要成分为基因组DNA。当检测的目标蛋白不与基因组DNA 紧密结合的情况下，可以直接离心裂解产物，取上清液用于后续实验；如果需要检测与基因组结合非常紧密的蛋白时，可通过超声处理打碎打散透明胶状物，随后离心取上清用于后续实验；用于常见的转录因子（如NF-κ B、P53 等）的检测时，可不必进行超声处理。

**【附录】GenStar 各种细胞裂解液的性能比较**

产 品 名 称		RIPA Lysis Buffer (Strong)	RIPA Lysis Buffer (Medium)	RIPA Lysis Buffer (Mild)	NP-40 Buffer	Lysis	Cell Lysis Buffer for Western & IP
货 号		E121-01	E122-01	E123-01	E124-01		E125-01
裂 解 强 度		***	**	*	*		*
有 效 成 分	Triton X-100	*	-	-	-		*
	NP-40	-	*	*	*		-
	SDS	*	*	-	-		-
	蛋白酶抑制剂	-	-	-	-		-
	磷酸酯酶抑制剂	*	*	*	*		*
用 途	Western Blot	*	*	*	*		*
	免疫沉淀 (IP)	*	*	*	*		*
	免疫共沉淀 (Co-IP)	-	-	*	*		*
	膜蛋白	***	**	*	*		*
	胞浆蛋白	***	***	***	***		***
	核蛋白	***	**	**	**		**
	磷酸化蛋白	***	***	***	***		***
兼 容 性	Bradford法蛋白定量	-	-	-	-		-
	BCA法蛋白定量	*	*	*	*		*

**【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。在所有情况下，本公司对此产品所承担的责任，仅限于此产品的价值本身。