货号：BR4C102

RIPA Lysis Buffer (Medium)

V02

产品概述

RIPA (Radio Immunoprecipitation Assay) Lysis Buffer 是一种传统的细胞组织快速裂解液，主要用于从动物细胞和组织中提取可溶性蛋白，其裂解得到的蛋白样品可以用于常规的 Western Blot、IP 及 Elisa 等实验。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。本品 RIPA Lysis Buffer (Medium)属于中等强度的裂解液，用 RIPA 裂解液裂解得到的蛋白样品，可以使用 BCA 蛋白定量试剂盒（Biori#BR4C201）或 Bradford 蛋白定量试剂盒（Biori#BR4C202）测定蛋白浓度。

产品组成

Components	BR4C102-01
RIPA Lysis Buffer (Medium)	100 mL

保存条件

2-8°C保存。

注意事项

1. 本产品仅作科研用途，不用于临床诊断。
2. 本品使用前需充分混匀，裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4°C进行。
3. RIPA 裂解液的裂解产物中经常会出现一小团透明胶状物，此为正常现象，该物质为基因组 DNA 等形成的复合物。如不检测和基因组 DNA 紧密结合的蛋白，可以直接离心取上清用于后续实验；若需要检测此类蛋白，则可以通过超声处理打散该透明胶状物，随后离心取上清即可用于后续实验。但如果检测一些常见的转录因子，例如 NF-κB、p53 等，通常不必进行超声处理就可完成检测。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

实验流程

细胞样品裂解步骤：

1. 取适量的裂解液，根据实验需要加入适当的蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物（Biori#BR4C121/BR4C122/BR4C123），在使用前数分钟内将抑制剂按 1:100（V/V）加入其中，可根据实验需求选择不同强度的 RIPA 裂解液（Biori#BR4C104）。
2. **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涤一遍（如果血清中的蛋白没有干扰，可以不洗涤）。按照 6 孔板每孔加入 150-250 µL 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，通常裂解液接触动物细胞 1-2 s 后，细胞就会被裂解。植物细胞宜在冰上裂解 2-10 min。
3. **对于悬浮细胞**：离心收集细胞，轻轻涡旋或者弹击管底使细胞尽量分散。按照 6 孔板每孔细胞加入 150-250 µL 裂解液的比例加入裂解液。轻弹管底以充分裂解细胞。充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。如果细胞量较多，须分装成 50-100 万细胞/管，然后再裂解。

细菌或酵母样品裂解步骤：

1. 对于 1 mL 菌液或酵母液，10000 rpm 离心 3-5 min 弃上清，建议使用 PBS 缓冲液洗涤一次，充分去除液体后，轻轻涡旋或者弹击管底使细胞尽量分散。加入 100-200 µL 裂解液，轻轻涡旋或者弹击管底以混匀，冰上裂解 2-10 min，如果希望获得更好的裂解效果，细菌和酵母可以分别使用溶菌酶（Lysozyme）和破壁酶（Lyticase）消化，然后使用裂解液进行裂解。

2. 充分裂解后，12000 rpm 离心 3-5 min 后取上清，即可进行后续的 PAGE、免疫印迹和免疫沉淀等操作。

注意：通常 6 孔板每孔细胞，1 mL 菌液或酵母液中的细菌和酵母量加入 150 µL 裂解液已经足够，如果细胞密度非常高可以适当加大裂解液的用量到 200-250 µL。每 100 万动物细胞使用 100 µL 本产品裂解后获得的上清，其蛋白浓度约为 2-4 mg/mL，不同细胞裂解后的蛋白浓度有所不同。

组织样品裂解步骤：

1. 将组织剪切成细小的碎片。用玻璃匀浆器匀浆，组织研磨仪研磨，直至样品充分裂解。也可以将组织样品冷冻后液氮研磨，再加入裂解液进行裂解。

2. 取适量的裂解液，根据实验需要加入适量的蛋白酶和磷酸酶抑制剂混合物（Biori#BR4C121/BR4C122/BR4C123）。

3. 按照每 20 mg 组织加入 150-250 µL 裂解液（含蛋白酶或磷酸酶抑制剂）的比例加入裂解液。如果裂解不充分可以适当添加更多的裂解液，如果需要高浓度的蛋白样品，可以适当减少裂解液的用量。

4. 样品充分裂解后，12000 rpm 离心 3-5 min 后取上清，即可进行后续的 PAGE、Western 和免疫沉淀等操作。每 20 mg 冻存的小鼠肝脏组织用 200 µL 本裂解液裂解后获得的上清，其蛋白浓度约为 15-25 mg/mL，不同状态的不同组织样品裂解后的蛋白浓度有所不同。

注意：如果组织样品本身非常细小，可以适当剪切后直接加入裂解液裂解，通过强烈涡旋使样品裂解充分。离心取上清用于后续实验。直接裂解的优点是方便快捷，不必使用匀浆器或研磨设备，缺点是不如匀浆或研磨的方式裂解充分。

产品选择参考

货号	BR4C101	BR4C102	BR4C103
产品名称	RIPA Lysis Buffer (Strong)	RIPA Lysis Buffer (Medium)	RIPA Lysis Buffer (Weak)
有效裂解成分	1% Triton X-100, 0.75% sodiun deoxycholate, 0.1% SDS	1% NP-40, 0.5% sodiun deoxycholate, 0.1% SDS	1% NP-40, 0.05% sodiun deoxycholate
裂解强度	强	中	温和
膜蛋白提取	很好	较好	一般
胞浆蛋白提取	很好	很好	很好
核蛋白提取	很好	较好	较好
主要用途	WB，IP	WB，IP	WB，IP，CO-IP