YoungGen

RIPA Lysis Buffer

CP501/502/503

产品概述 Product Overview

本 RIPA 裂解液试剂盒，是一种传统的细胞组织快速裂解液，组分包含 Triton X-100、sodium deoxycholate、SDS 等（其中 CP503不含 SDS），多种成分均可以从细胞中提取总蛋白，并添加了 EDTA，可有效减少蛋白降解，得到的蛋白样品可用于常规的 IP、 Western Blot 等实验。裂解后的蛋白样品可采用 BCA 法测定蛋白浓度，因含高浓度去垢剂，不可使用 Bradford 法检测蛋白浓度。

产品组成 Product Composition

产品编号	产品组分（500 rxns）
CP501	Enhanced RIPA Lysis Buffer (100 mL)、 PMSF (1mL, 100mM)
CP502	Medium RIPA Lysis Buffer (100 mL)、PMSF (1mL, 100mM)
CP503	Weak RIPA Lysis Buffer (100 mL)、PMSF (1mL, 100mM)

注：本试剂盒均采用公开配方，其中 CP503 不含 SDS。

注意事项 Precautions

- 如果细胞量较多，必须分装成 $5\times10^5 \sim 1\times10^6$ 个 cell / 离心管，吹散后再裂解，大团的细胞较难裂解充分，而少量的细胞由于裂解液容易和细胞充分接触，相对比较容易裂解充分。
- 贴壁细胞弃去培养液后，若无血清蛋白干扰，可省略清洗步骤。
- 细小的组织样品可剪碎后直接加裂解液，剧烈涡旋充分裂解，离心取上清即可用于后续实验，该方法操作简便，无需匀浆器，但裂解效果弱于匀浆处理。
- 裂解不充分可适当增加裂解液用量，想要获得高浓度蛋白样品，可适当减少裂解液用量。
- 裂解后出现透明胶状物为正常现象，为基因组 DNA 复合物，若无需检测与基因组 DNA 紧密结合的蛋白，可直接离心取上清，若需检测该类蛋白，需超声打碎胶状物后再离心取上清。
- 为防止蛋白降解，细胞裂解全程需在冰上或 4℃低温环境操作。
- 裂解液低温下可能出现浑浊，37℃ 水浴即可复溶，不影响实验效果；水浴时间不宜过长，防止有效成分失活。常规 4℃ 保存，长期储存可 -20℃。
- PMSF 溶液：4℃ 可保存 1-2 周，室温放置 2 天易失效，最好 -20℃ 保存。

操作流程

Operation Process

一、配制裂解液：

- 融解 PMSF 溶液，进行瞬时离心，取适量 RIPA Lysis Buffer，上下颠倒混匀，加入PMSF 配制成裂解液 (PMSF 的浓度为 100 mM，应配制最终浓度为 1 mM，如 1 mL RIPA Lysis Buffer 加入 10 μL PMSF) 。

  临用前配制，不可长期保存。

二、裂解样本

1. 贴壁细胞

- 轻柔地去除培养液，用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗 1 次细胞，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，置于冰上或 4℃ 裂解 15～ 30min。

  裂解时间依据细胞种类和密度各有不同，难裂解细胞可裂解30min。

- 10000～12000g 4℃ 离心 5～10min (如无低温离心机，室温离心亦可)，取上清后可直接用于后续实验，或分装后 -80℃ 保存 (避免反复冻融) 。

2. 悬浮细胞

- 低速离心悬浮细胞，弃上清，用 PBS、生理盐水或无血清培养液清洗 1 次细胞，离心后弃上清，留取沉淀。
- 用手指把细胞用力弹散，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 (如果细胞量较多，分装成 5×10^5 ~ 1×10^6 个 cell / 离心管，吹散后再裂解)，用枪吹打数下，使裂解液和细胞充分接触，置于冰上或 4℃ 裂解 15～ 30min，充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。

  裂解期间可上下颠倒离心管 3-5 次，以便裂解得更充分。

- 10000～12000g 4℃ 离心 5～10 min (如无低温离心机，室温离心亦可)，取上清后可直接用于后续实验，或分装后 -80℃ 保存 (避免反复冻融) 。

3. 组织样本

- 将组织剪切成细小碎片。
- 剪碎的组织放置液氮或在超低温冰箱中冷冻 30min， 然后迅速用液氮研磨，研磨过程尽量控制在 1～2 min 之内，以减少蛋白的降解。每 20 mg 组织加入 150～250 μL裂解液，置于冰上或4℃裂解 15～30 min。 (亦可以采用如下过程：按照每 20 mg 组织加入 150～250 μL裂解液的比例，加入裂解液后用玻璃匀浆器或组织研磨器匀浆，直至充分裂解，该过程尽量控制在 1～2min 之内，以减少蛋白的降解。)

  裂解不充分可适当增加用量，需高浓度蛋白样品可适当减少用量。

- 10000～12000g 4℃ 离心 5～10min (如无低温离心机，室温离心亦可)，取上清后可直接用于后续实验，或分装后 -80℃ 保存 (避免反复冻融) 。

保存条件

冰袋运输； PMSF 于 -20℃ 保存，其他组分 4 ℃ 保存（长期储存可 -20℃ ）；有效期：24 个月。