上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co.， Ltd
电话：021-61312973　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

高效 RIPA 裂解液(组织/细胞)

货号：R32714

规格：20mL，100mL

本产品配有一支 PMSF（0.3ml，1.5ml）

保存温度：-20℃保存，有效期 12 个月。

使用说明（仅供参考）：

如发现 RIPA 有沉淀，请放室温半小时或者常温水浴使沉淀溶解。

根据使用量，取每 1ml RIPA 加入 10ul PMSF，使 PMSF 的最终浓度为 1mM。混匀备用（PMSF 现用现加）。样本裂解均需要冰上或低温操作，裂解时间 20-30 分钟。

1、样品前处理：

a)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 孔板每孔细胞量加入 150-250 ul 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。

b)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 孔板每孔细胞量加入 150-250 ul 裂解液的比例加入裂解液，再用手指轻弹以充分裂解细胞。充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。如果细胞量较多，必需分装成 50-100 万细胞/管，然后再裂解。

c)对于组织样品： 把组织剪切成细小的碎片。按照每 20mg 组织加入 150-250 ul 裂解液的比例加入裂解液。(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)。用玻璃匀浆器匀浆，直至充分裂解。

2、后处理：

将裂解后的样品 10000-14000g 离心 3-5 分钟，取上清，即可进行后续的蛋白浓度测定、SDS-PAGE、Western blotting 和免疫沉淀等操作。

注意事项：

本试剂为强烈型裂解液，可以提取核蛋白，但在提取核蛋白的同时，也会将基因组一并释放出来，若细胞量多会造成细胞裂解液粘稠：此时可以超声打断基因组或者直接加入蛋白上样缓冲液，煮沸再离心，离心后直接上样电泳；若想测定浓度，可加入少量 SDS（1%），煮沸后离心测浓度。

本系列蛋白提取试剂所提取的蛋白由于含有去污剂，所以不适合使用 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒，请选择 BCA 法或者 Lowry 法检测蛋白浓度。

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粘稠状物，随后离心取上清用于后续实验。