

## 高效RIPA裂解液(组织/细胞)

**货号:** AR0010

**保存:** RIPA裂解液4℃保存, PMSF-20℃保存。

### 使用说明:

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。

### 相关产品:

AP1020 1×PBS, PH7.2-7.4, 0.01M

AR0020 RIPA组织细胞裂解液

AR0030 非变性组织细胞裂解液

AP1015 4×蛋白上样缓冲液 (含DTT)

PC0020 BCA法蛋白浓度测定试剂盒

PC0030 Lowry法蛋白浓度测定试剂盒