

RIPA裂解液(强)

RIPA Lysis Buffer (Harsh)

注:本产品冰袋运输。RIPA保存于4°C, PMSF保存于-20°C, 有效期12个月。

货号规格/Catalog Number and Size

货号	规格
RIPA Lysis Buffer	100 mL
PMSF(100mM)	1.5 mL

产品特点/Highlights

- 高效裂解**
有效破碎细胞膜和核膜, 获得高产量总蛋白样品;
- 使用便捷**
产品自带蛋白酶抑制剂 PMSF, 按比例混匀即可使用;
- 兼容性强**
缓冲体系兼容 Western blot、IP、BCA/Bradford 定量等实验。

产品简介/Product Description

本产品是一款基于经典裂解液优化的强裂解液, 能高效裂解贴壁及悬浮细胞、组织样本, 所得总蛋白可用于 Western blot、IP/Co-IP、BCA/Bradford 定量等实验。本产品配有高效的蛋白酶抑制剂 PMSF, 可以有效抑制蛋白的降解, 并维持原有的蛋白质间相互作用。

使用流程/Procedure

取 100 μ L PMSF, 以 1:100 比例加入到 10 mL RIPA Lysis Buffer 中, 混匀后即可使用。

注: 现配现用, 不可长期储存。

贴壁细胞

1. 弃去培养基，用 PBS 洗 1 遍，低速离心，弃上清，保留沉淀；
2. 以 6 孔板为例：每孔加入 150~250 μL 含有 PMSF 的 RIPA Lysis Buffer，轻轻摇晃使液体覆盖所有细胞表面，置于冰上或 4°C 裂解 5~10 min。再用移液器轻轻吹打细胞，并将其转移至 1.5mL 离心管中。
注：过程中可用手指轻弹孔板，使细胞松散。
3. 4°C 条件下 10,000~12,000 g 离心 10 min，取上清制备样品，或用于后续其他实验。

悬浮细胞

1. 1000 g 离心 5 min 富集细胞，弃上清，保留沉淀；
2. 后续同贴壁细胞 2~3 步骤。

组织样本

1. 将组织剪成碎片，越碎越好；
2. 将组织放置在液氮或者超低温冰箱中冷冻 30 min，用液氮研磨（尽量控制在 1~2 min 内以减少蛋白的降解），每 20 mg 组织推荐加入 150~250 μL 含 PMSF 的 RIPA Lysis Buffer，置于冰上或者 4°C 裂解 15~30 min。
注：也可按照每 20 mg 组织加入 15~250 μL 含 PMSF 的 RIPA Lysis Buffer，用玻璃匀浆器或者组织研磨器匀浆，直至充分裂解。该过程尽量控制在 2~5 min 之内，以减少蛋白的降解。
3. 后续同贴壁细胞 2~3 步骤。

注意事项/Notes

1. 去除贴壁细胞的培养液后，如果血清中的蛋白没有干扰，可以不用清洗；
2. 如果裂解不充分，可以适当增加裂解液的用量；如果需要高浓度蛋白样品，可以适当减少裂解液的用量；
3. 如果细胞量较多，需分装成 $0.5\sim 10\times 10^6$ 个细胞 / 离心管，再进行裂解；
4. 如果组织较小，可适当剪切后直接加入裂解液，通过强烈的 Vortex 或超声使样品充分裂解；
5. 本产品含有特殊成分，在低温情况下可能出现浑浊现象，可 37°C 水浴促进溶解，不影响使用，溶解时间不宜过长；为避免成分失效，4°C 保存即可，长期不用再于 -20°C 保存；
6. PMSF 溶液可置于 4°C 保存 1~2 周，-20°C 可保存 1 年以上，室温放置 2 天即可能失效；
7. 裂解液产物中出现小团透明胶状物，属于正常现象，该透明胶状物为含有基因组 DNA 等的复合物，可直接离心后取上清用于后续实验；如果需要检测的蛋白质与基因组结合较为紧密，则可以通过超声处理打碎该透明胶状物，随后离心取上清用于后续实验；
8. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作；
9. 本产品仅限科研使用。

