



蛋白裂解液 (RIPA)

使用说明书

本品是一种传统的细胞组织快速裂解液。使用本品裂解得到的蛋白样品可以用于常规的 Western、IP 等。主要成分为 50mM Tris (pH7.4), 150mM NaCl, 1% NP-40, 0.1% SDS。

使用本品裂解得到的蛋白样品, 可以用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度。由于含有较高浓度的去垢剂, 不能用 Bradford 法测定由本裂解液裂解得到样品的蛋白浓度。

保存条件: 4℃

制备细胞裂解产物:

- 1、800g 4℃ 离心 5 分钟, 收集细胞, 估计细胞离心后的体积(PCV, 10^6 cells \approx 20ul PCV, 10^7 cells \approx 100 ul PCV)
- 2、每 50~100ul PCV 加入 5 倍体积的蛋白裂解液 (250~500ul), 冰浴中放置 10 分钟, 且每隔 5 分钟在漩涡混合仪震荡 30 秒;
- 3、12000g 4℃ 离心 10 分钟, 将上清转移到新的离心管中, 即得细胞总蛋白产物;
- 4、假如所得蛋白产物较为粘稠, 可 95℃ 加热 5 分钟, 然后迅速冰浴 5 分钟, 12000g 4℃ 离心 10 分钟, 将上清转移到新的离心管中, 即得细胞总蛋白产物。

制备组织裂解产物:

- 1、取 50-100mg 组织在冰上剪成碎片, 用预冷的 PBS 洗涤 2 次, 离心弃去 PBS;
- 2、加入 0.5-1ml 预冷的蛋白裂解液;
- 3、4℃ 用玻璃匀浆器匀浆 20-40 次, 直到 95% 的细胞被破碎, 然后在冰浴中放置 10 分钟, 且每隔 5 分钟在漩涡混合仪震荡 30 秒;
- 4、12000g 4℃ 离心 10 分钟, 将上清转移到新的离心管中, 即得组织总蛋白产物;
- 5、假如所得蛋白产物较为粘稠, 可 95℃ 加热 5 分钟, 然后迅速冰浴 5 分钟, 12000g 4℃ 离心 10 分钟, 将上清转移到新的离心管中, 即得组织总蛋白产物。
- 6、20% 的甘油保存于 -70℃ 或 -20℃。

注意事项:

- 1、在转移上清液时不要吸入底部的沉淀物;

-
- 2、在做免疫沉淀或免疫共沉淀时，最好在实验前进行蛋白的提取，以避免某些不稳定蛋白的降解；
 - 3、本品中未加入蛋白酶抑制剂，**需自备 PMSF**。取适当量的裂解液，在使用前数分钟内加入 PMSF，使 PMSF 的最终浓度为 1mM。
 - 4、裂解蛋白的所有步骤都需在冰上或 4℃ 进行。



Shanghai ShineGene Molecular Bio-tech Co.,Ltd.

Add: Floor 2, Building A, 328#, Wuhe Road, Shanghai, 201109, China

Tel: +86-21-54460832

Fax: +86-21-54460831

E-mail: master@shinegene.org.cn

WebSite: www.synthesisgene.com

