加强型 RIPA 裂解液 C1053+

描述： 加强型 RIPA 裂解液加强型对动物细胞胞膜、胞浆、胞核成分有较强裂解作用，是常用的细胞组织快速裂解液。使用加强型 RIPA 裂解液特别适于提取膜蛋白以及 western blot 和大多数蛋白-蛋白相互作用的实验等。

储存：4 ℃保存 12 个月有效

制备细胞裂解产物

1. 800g 4℃离心 5 分钟收集培养细胞，估计细胞离心后的体积（PCV, 10^6 cells=~20 μl, 10^7 cells =~100 μl PCV）；
2. 每 50-100 μl PCV 加入 5 倍体积 RIPA 裂解缓冲液（250-500 μl）,冰浴中放置 10 分钟，并每隔 5 分钟在漩涡混合仪上振荡 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，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 50-100 mg 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 0.5-1 ml 预冷 RIPA 裂解缓冲液；
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，并每隔 5 分钟在漩涡混合仪上振荡 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，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°C 或-20°C。

注意：

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. 在该 RIPA 裂解缓冲液中未加入蛋白酶抑制剂。