RIPA 裂解液（带 PMSF） C1055

描述： RIPA 裂解液对动物细胞胞膜、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 RIPA 裂解液加强型特别适于 western blot 和大多数蛋白-蛋白相互作用的实验等。PMSF 能抑制蛋白酶对蛋白的降解。

储存：RIPA 裂解液 100ml 4 ℃保存 PMSF 粉末 （100mM） -20℃保存
PMSF 溶剂 1ml -20℃保存 以上组分 12 个月有效

制备细胞裂解产物（预先将 PMSF 溶剂加入 PMSF 粉末中混匀，按 1:99 比例加入 RIPA 裂解液中）

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（预先将 PMSF 溶剂加入 PMSF 粉末中混匀，按 1:99 比例加入 RIPA 裂解液中）

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. PMSF 溶液易降解，请于-20°C 保存，按比例现用现加。