



Analysis Quiz

变性组织裂解液

(巯基乙醇可选)

#AQ524-100ml

#AQ525-100ml

产品简介

本产品是一种强效的组织细胞快速裂解液，利用表面活性剂等来裂解细胞(含核膜)，可用于裂解体外培养细胞或动物组织，从中提取可溶性蛋白。本品主要成分为50 mM Tris(pH 8.0)，10% glycerol，2 mM Na_3VO_4 ，2% SDS，1% 2-Mercaptoethanol以及50 mM sodium fluoride。该溶液裂解效果较强，特别适用于较难裂解的动物组织。推荐用量请参考文末附表，根据实验需求添加。提取的蛋白主要应用于Western Blot、IP和ELISA等实验。请使用BCA法测定蛋白浓度。请根据需要选择是否包含巯基乙醇。

储存条件

室温保存，有效期12个月，如需保存更长时间请放 -20°C 储存。

使用说明

1. 取适量的裂解液，根据实验要求在使用前2-3min向裂解液中加入适量蛋白酶/磷酸酶抑制剂Cocktail等(需自备)。
2. 样品处理：
 - a 贴壁细胞：吸除培养基，用PBS/生理盐水等洗1-2遍，按照6孔板每孔细胞里加入200-400u1裂解液的比例进行裂解实验，用移液器吹打数次，使裂解液和细胞充分接触。
 - b 悬浮细胞：离心收集细胞，用PBS/生理盐水等洗1-2遍，按照 5×10^6 细胞里加入200-400u1裂解液的比例进行，轻弹混匀使充分裂解，充分裂解后应没有明显的细胞沉淀，如细胞量比较多，可分成多管。
 - c 组织样品：把组织剪切成 $3 \times 3\text{mm}$ 左右的小碎块，按照每20mg组织加入150-250u1裂解液的比例进行裂解实验，如果裂解不充分可适当增加裂解液的量。用匀浆器匀浆处理，玻璃匀浆器可上下手动匀浆约15次，直至充分裂解。整个操作过程要在冰上操作。



3. 将裂解液转移到新的离心管中，冰上孵育20min，充分裂解后，14000g离心10min，吸取上清至干净预冷的离心管中，即可进行蛋白浓度测定。
4. 将制备好的蛋白样品分装后，放-80℃冻存，应避免反复冻融。

注意事项

1. 本产品仅限用于科学研究。
2. 请佩戴防护手套使用本产品，避免直接接触皮肤。
3. 使用前，如发现RIPA裂解液有沉淀，请放室温30分钟或常温水浴中使沉淀溶解。
4. **裂解样品的所有操作步骤都需在冰上或4℃进行。**
5. 本产品提取的蛋白由于含有去污剂SDS，所以不适合使用Bradford蛋白浓度测定试剂盒，请选择 BCA 法测定蛋白浓度。
6. 本产品可以裂解细胞核，在释放出核蛋白的同时，也会将基因组一并释放出来，造成细胞裂解液粘稠，此时可以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；若想测定蛋白浓度，可入加少量1% SDS，煮沸后离心再测定浓度。
7. 如需检测与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，之后离心取上清用于后续实验。

参考用量

参考培养介质	参考细胞量 ($\times 10^6$)	裂解液用量(μ l)	蛋白质量(μ g)
6孔板	0.9 - 1.2	350	300 - 400
12孔板	0.3 - 0.5	200	100 - 150
24孔板	0.1 - 0.15	100	40 - 60