

仅限科研

版本号：202301

植物 RIPA 裂解液(强)

产品内容

产品货号	产品名称	规格	保存
SDP0002	植物 RIPA 裂解液(强)	100 mL	-20℃

产品描述

植物 RIPA 裂解液(强)(Plant RIPA Lysis Buffer(Strong))是一种常用的植物细胞组织或原生质体快速裂解液。该产品的主要成分为 1% Triton X-100、1% sodium deoxycholate(脱氧胆酸钠)和 0.1% SDS 等去垢剂以及 sodium orthovanadate(钒酸钠)、sodium fluoride(氟化钠)、EDTA 和 leupeptin(亮肽素)等多种抑制剂，可以有效抑制蛋白质的降解。植物 RIPA 裂解液(强)裂解得到的蛋白样品可以用于常规的 PAGE、蛋白质免疫印迹(WB)、免疫沉淀(IP)等。

操作流程

1.植物细胞样品

- (1)溶解植物 RIPA 裂解液(强)，混匀。取适当量的裂解液，加入适当的蛋白酶抑制剂 Cocktail（货号：SDP0003），磷酸酶抑制剂 Cocktai（货号：SDP0004），终浓度为 1x。
- (2)离心收集植物细胞，按照每 50-100 万细胞加入 100-200uL 裂解液的比例加入裂解液。用枪吹打数下，使裂解液和细胞充分接触，在冰上裂解 2-10min。
- (3)充分裂解后，10000-14000g 离心 3-5 min，取上清，即可进行后续的 PAGE、WB 和 IP 等操作。

2.植物原生质体样本

- (1)把组织剪切成细小的碎片，制备原生质体。
- (2)质粒转化原生质体，继续培养 16-48h，根据需要采取合适的实验条件进行处理(可选)。
- (3)100-500g 低速离心收集原生质体。
- (4)融解植物 RIPA 裂解液(强)，混匀。取适当量的裂解液，加入适当的蛋白酶抑制剂 Cocktail（货号：SDP0003），磷酸酶抑制剂 Cocktai（货号：SDP0004），终浓度为 1x。



(5)按照每 50-100 万原生质体加入 100-200uL 裂解液的比例加入裂解液。轻轻弹管底使细胞充分裂解，充分裂解后应没有明显的原生质体沉淀。如果原生质体量较多，需分装成每管 50-100 万原生质体，然后再裂解。大团的 50-100 万原生质体较难裂解充分，而少量的 50-100 万原生质体由于裂解液易和 50-100 万原生质体充分接触，较容易裂解充分。

3. 植物组织样品

(1)把植物组织剪切成细小的碎片。

(2)融解植物 RIPA 裂解液(强)，混匀。取适当量的裂解液，在使用前加入适当的蛋白酶抑制剂 Cocktail（货号：SDP0003），磷酸酶抑制剂 Cocktai（货号：SDP0004），终浓度为 1x。

(3)按照每 20 mg 植物组织加入 100-200uL 裂解液的比例加入裂解液。(若裂解不充分可适当增加裂解液用量，如果需要高浓度蛋白样品，可适当减少裂解液的用量。)

(4)用玻璃匀浆器匀浆，直至充分裂解。或把组织样品冷冻后液氮研磨，研磨充分后加入裂解液进行裂解。

(5)充分裂解后，10000-14000g 离心 3-5min，取上清，即可进行后续的 PAGE、WB 和 IP 等操作。

注意事项

(1)如果植物组织样品本身非常细小，可以适当剪切后直接加入裂解液裂解，通过强烈涡旋使样品裂解充分。然后同样离心取上清，用于后续实验。直接裂解的优点是比较方便，不必使用匀浆器或研磨设备，缺点是不如匀浆或研磨那样裂解比较充分。

(2)植物 RIPA 裂解液的裂解产物中经常会出现一小团透明胶状物，该透明胶状物为含有基因组 DNA 等的复合物，是正常现象。在不检测和基因组 DNA 紧密结合的蛋白情况下，可以直接离心取上清用于后续实验；如果需要检测和基因组紧密结合的蛋白，则可以通过超声处理打碎打散该透明胶状物，随后离心取上清用于后续实验。如果检测一些常见的转录因子，如 NF-kappaB、p53 等时，通常不必进行超声处理，即可检测到这些转录因子。

(3)为取得最佳的使用效果，建议适当分装后使用尽量避免反复冻融。

(4)裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4℃进行。

