



Universal Lysis Buffer

目录

1. 产品介绍.....	1
2. 使用方法.....	1
3. 注意事项.....	2
4. 订购信息及相关产品	2

1. 产品介绍

Universal Lysis Buffer (通用裂解液) 是一种使用非常广泛的, 在非变性条件下裂解组织或细胞的裂解液, 样品包括动物、植物的细胞或组织, 以及细菌样品。提取的蛋白样品可用于 PAGE, Western Blot, 免疫沉淀 (Immunoprecipitation, IP) IP, 免疫共沉淀 (Co-IP) 和 pull-down 等实验。

1.1 裂解方式

常见的裂解方法有两大类, 物理法与化学法。物理方法, 例如超声法、均质法、研磨法、冻融法等。化学方法, 例如有机溶剂法、酸碱裂菌法、溶菌酶消化法。化学方法的优势在于不受体积的限制, 可以处理微升级别样品。其中, 溶菌酶法对原核细胞和大多数真核细胞有较好的裂解效果。酸碱裂菌法速度快、效率高, 但条件剧烈不利于维持蛋白的天然构象, 该法在核酸提取中应用最为广泛。通用裂解液针对多种样本, 采用温和的表面活性剂, 并添加蛋白保护剂进行裂解, 保持原有的分子结构和蛋白间相互作用。

1.2 蛋白保护剂

通用裂解液中含有甘油和多种蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂, 可以在裂解过程中保护蛋白的稳定性。磷酸酶抑制剂中包含了酸性、碱性以及酪氨酸 / 丝氨酸 / 苏氨酸磷酸酶抑制剂。而蛋白酶抑制剂包含了金属蛋白酶、氨肽酶以及丝氨酸 / 天冬氨酸 / 半胱氨酸抑制剂, 代替了有毒的 PMSF。

1.3 保存条件

- 1) 本产品为单组分, 短期内 (60 天) 可放置于 2-8°C 保存, 长期保存可冻存于 -20°C 一年, 避免反复冻融。
- 2) 产品运输温度为 2-8°C; 可以在收到产品后, 分装冻存, 复溶后需要混合均匀再使用。

1.4 主要用途

- 1) 小量样本的快速裂解, 后续可用于小量诱导蛋白的可溶性鉴定、pull-down、IP/Co-IP 等实验。
- 2) 中量样本的快速裂解, 后续可用于蛋白纯化、性质表征。

2. 使用方法

2.1 提取细胞蛋白

2.1.1 贴壁或悬浮细胞

1) 贴壁细胞: 去除单层细胞的培养基后, 用 1×PBS 漂洗 2-3 次 (去除血清), 然后加入胰酶消化 (一般 1~5min, 有些细胞可能需要更长的时间), 使用血清或者含有血清的培养基终止消化, 加入 1×PBS 重悬后, 将细胞放至离心管中;

悬浮细胞: 将细胞悬液以 2000rpm, 4°C 离心 5min, 弃上清, 收集细胞, 用 1×PBS 轻柔漂洗一次。

2) 4000rpm, 4°C 离心 10min 收集细胞, 去除上清, 收集沉淀; 然后通过涡旋或者手指轻弹管底, 分散底部的细胞。

3) 按照每 5×10⁶ 个 CHO 或 293 细胞加入 1ml 的通用裂解液重悬。

4) 用移液枪吹打数下使裂解液和细胞充分接触; 冰浴或 4°C 处理 15min, 使细胞充分裂解。

2.1.2 原核细胞

1) 取 1ml (OD₆₀₀ 在 1.0-1.2 之间) 菌液 4000rpm, 4°C 离心 10min, 去除上清, 用 1×PBS 重悬并清洗一遍。

2) 再次 4000rpm, 4°C 离心 10min 收集细胞, 去除上清, 收集沉淀; 然后通过涡旋或者手指轻弹管底, 分散底部的细菌。

3) 加入 200μl 通用裂解液, 轻轻涡旋以混匀, 冰浴或 4°C 处理 15min。



2.1.3 酵母细胞

- 1) 使用贴壁酶、玻璃珠研磨等方式对酵母进行前处理(该步骤不可省略,可提高通用裂解液对酵母细胞的裂解效果)。
- 2) 取 1ml 酵母液 4000rpm, 4°C离心 10min, 去除上清, 用 1×PBS 重悬并清洗一遍。
- 3) 4000rpm, 4°C离心 10min, 去除上清, 然后通过涡旋或者手指轻弹管底, 分散底部的酵母。
- 4) 加入 200µl 通用裂解液, 轻轻涡旋以混匀, 冰浴或 4°C处理 15min。

2.1.4 蛋白样品收集

- 1) 样品充分裂解后, 10000~14000×g 离心 3-5min, 取上清。
- 2) 进行后续的 PAGE、WB、IP 和 Co-IP 等实验。

2.2 提取组织蛋白(植物或动物)

- 1) 将新鲜组织块迅速置于预冷的生理盐水中, 漂洗数次, 洗净组织血迹, 用滤纸吸干组织表面液体, 然后将组织切成细小的碎片(该步骤可使用液氮或玻璃珠研磨替代, 裂解效果更佳)。
- 2) 准备多个 EP 管, 称重并做好标记, 将组织小块放入 EP 管中, 称重, 按照每 20mg 组织加入 200µl 裂解液的比例加入裂解液; 如果裂解不完全, 可适当增加裂解液使用量(不超过两倍用量); 如果需要较高浓度的蛋白样品, 可适当减少裂解液使用量(不低于 1/2 用量)。
- 3) 冰浴或 4°C处理 15min。
- 4) 10000~14000×g 离心 3-5min, 取上清, 即可进行后续的 PAGE、WB、IP 和 Co-IP 等实验。

3. 注意事项

- 1) 建议对裂解液进行分装, 尽量避免反复冻融; 请在冰上或者 4°C裂解样品。
- 2) 裂解得到的蛋白样品含有干扰 Bradford 法检测的物质, 建议使用 BCA 法蛋白浓度检测试剂盒测定蛋白浓度。
- 3) 若裂解样品粘稠, 在无核酸处理方案的情况下, 可稀释裂解样品。
- 4) 裂解液中含有甘油与表面活性剂, 不建议用透析袋的方法进行浓缩, 可通过层析柱富集或降低裂解比例。
- 5) 为了您的安全和健康, 实验过程中请穿实验服并戴一次性手套进行操作。
- 6) 本产品仅限科研使用。

4. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
Universal Lysis Buffer	BR0127-01	100ml
	BR0127-02	500ml