



通用裂解液

名称	货号	规格
通用裂解液	YB-3303	100ml

产品介绍:

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，WesternBlot，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℃保存，长期保存可冻存于-20℃一年，避免反复冻融。
- 2) 产品运输温度为2-8℃;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。

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℃离心5min，弃上清，收集细胞，用1×PBS轻柔漂洗一次。

2) 4000rpm，4℃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 5×10^6 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℃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。

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。

