

2 × Laemmli Buffer

产品编号	试剂名称	规格	保存条件
FRP-01	2 × Laemmli Buffer	30 ml	RT
	说明书	1 份	

一、运输与存储。

本产品常温运输和保存，有效期 3 年。

二、注意事项（实验前阅读）。

1. 本产品与 Bio-Rad 公司的 2 × Laemmli Buffer 具有同样的裂解效果和使用方法。
2. 本产品不含还原剂，因此裂解细胞后可以用 BCA 法测定蛋白浓度。
3. 本产品会导致蛋白变性和蛋白复合物解离，因此本产品制备的细胞裂解产物不适合做免疫沉淀和蛋白激酶活性检测实验。
4. 本产品不可用 ddH₂O 稀释成 1×Laemmli Buffer 后裂解细胞，否则其裂解效果降低，且用于 SDS-PAGE 实验时，其 Loading Buffer 功能降低。
5. 为了您的健康，实验过程中请穿好实验服、佩戴乳胶手套和安全眼镜。

三、产品简介。

2 × Laemmli Buffer 是一种经典的细胞裂解液，含有十二烷基硫酸钠（Sodium Dodecyl Sulfate, SDS），可以使蛋白变性，导致细胞内膜性结构的崩解和蛋白的释放。细胞裂解液中的蛋白浓度可用 BCA 法测定，并进行 SDS-PAGE 分析，是制备 Western Blot 样品的首选细胞裂解液。

四、特点与优势。

1. 本产品为即用型试剂，与细胞混匀后，即可裂解细胞。
2. 本产品含有蛋白变性剂，可以提取细胞质、细胞核及细胞膜蛋白，提取效率高。
3. 本产品具有 Loading Buffer 的作用，裂解细胞后可以直接上样，进行 SDS-PAGE 分析。

五、自备试剂。

β-巯基乙醇（β-ME）或二硫苏糖醇（DTT）。

六、使用说明。

1. 细胞裂解。利用 2 × Laemmli Buffer 裂解细胞的方式有 2 种，分别是：
 - 1) 胰酶消化法收集贴壁细胞或离心法收集悬浮细胞，PBS 洗涤一次，加入与细胞沉淀等体积的 2 × Laemmli Buffer，混匀，100 °C 煮沸 5 min，冰水混合物中冷却。
 - 2) 直接裂解。6 孔板培养的细胞，弃培养液，PBS 洗涤一次，加入 50-200 μ l 的 2 × Laemmli Buffer，移液器混匀，并将细胞裂解液转移到 1.5 ml 离心管中，100 °C 煮沸 5 min，冰水混合物中冷却。
2. 离心。12,000 g，4 °C 离心 5 min，上清转移至新的 EP 管，即为细胞裂解液。
3. 蛋白浓度测定。用 2 × Laemmli Buffer 作为对照，利用 BCA 法蛋白浓度测定试剂盒测定细胞裂解液中的蛋白浓度，并计算上样体积。
4. SDS-PAGE 分析。细胞裂解液中加入还原剂，如 β -ME (终浓度为 5%) 或 DTT (终浓度为 10-100 mM)，混匀，移取适量细胞裂解液，加入聚丙烯酰胺凝胶的胶孔，电泳分析。

2 × Laemmli Buffer 用量表

培养皿类型	24 孔板	12 孔板	6 孔板	培养皿 (ϕ 35 mm)	培养皿 (ϕ 60 mm)	培养皿 (ϕ 100 mm)
2 × Laemmli Buffer 体积 (μ l)	30-50	50-100	100-200	100-200	200-400	800-1000

七、常见问题与分析。

问题	可能原因	解决方案
裂解液中蛋白浓度较低	细胞较少。	提高细胞用量。
	2 × Laemmli Buffer 用量过大。	减少 2 × Laemmli Buffer 用量
细胞裂解液粘稠	细胞量过大。	减少细胞用量。
	2 × Laemmli Buffer 用量过小。	增加 2 × Laemmli Buffer 用量
	裂解液未煮沸。	裂解液在 100 °C 煮 5 min。
细胞裂解液中有沉淀	细胞量偏大，未充分裂解。	增加 2 × Laemmli Buffer 用量，增加混合强度，或减少细胞用量。
	细胞裂解液反复冻融，导致蛋白和盐类沉淀。	分装细胞裂解液，减少冻融次数。