

## cOmplete Lysis Kits:

# 快速蛋白抽提，保护目的蛋白免受蛋白酶降解

Cordula Nemetz\*, Claudia Vorwerk, Claudia Kirr

罗氏诊断应用科学部, 匹兹堡, 德国

\* 联系作者: cordula.nemetz@roche.com 编译: 杨奇志

### 简介

样本的制备在蛋白分析的三个主要研究领域: 表达蛋白质组学、结构蛋白质组学和功能蛋白质组学中都是至关重要的一步。蛋白质抽提过程中使用的机械力、化学或酶学处理方法都会直接干扰蛋白质的生物活性和结构完整性, 因而轻柔高效的从细胞中抽提蛋白质的方法非常重要。轻柔地方法破碎细胞较之于通常的粗放方法, 更加的简单、高效、方便。相对于传统方法, 使用即取即用的 cOmplete Lysis Reagent 能非常高效地平行处理大数量样本 (例如, 在微孔板中处理)。裂解试剂结合复合蛋白酶抑制剂混合片剂 (cOmplete Protease Inhibitor Cocktail Tablets), 在细胞裂解时能够同时高效抑制多种来源蛋白酶, 避免目的蛋白质被降解。这样就使得操作的标准化和可靠性方面达到更高的水平, 而这一点对高效成功的蛋白质组分析非常必要。cOmplete Lysis-B(2x), -M 和 -Y 试剂盒中含有效、轻柔的裂解试剂和复合蛋白酶抑制剂混合片剂, 同时罗氏应用科学部还提供无 EDTA 的包装。

### 快速高效裂解细菌细胞并同时有效抑制蛋白酶作用

cOmplete Lysis-B Kit 试剂盒中的 Lysis-B Reagent 裂解液是两倍浓度的蛋白质抽提试剂, 可以裂解处理较小体积细胞培养液。该试剂为即取即用型, 无需进一步稀释; 含有非离子去垢剂, 可高效轻柔地裂解细菌和昆虫细胞。

使用试剂盒中的 Lysis-B Reagent 和 cOmplete Protease Inhibitor Cocktail Tablets 一起来抽提大肠杆菌 BL21 DE3 pLysS 细菌细胞中过度表达的绿色荧光蛋白 (GFP)。细胞培养至 OD<sub>600</sub> 值为 1.5-2.0 的浓度, 离心后用含 cOmplete Protease Inhibitor Tablets (每 5 ml 裂解液 1 片) 的 Lysis-B 试剂重悬。图 1a 所示, 使用 SDS 胶电泳以及考马斯亮蓝染色法分析总蛋白片段、上清液蛋白片段和沉淀物的蛋白片段。通过 Bradford 蛋白试剂测定, 一般地, 从大肠杆菌 BL21 细胞中可获得的 3 mg/ml - 4 mg/ml 蛋白 (图 1b)。Bradford 蛋白试剂作标准曲线时, 牛血清白蛋白 (BSA) 溶解于 Lysis-B Reagent 后用水按照 1:5 比例稀释。同样, 在蛋白质产量测定前, 细菌

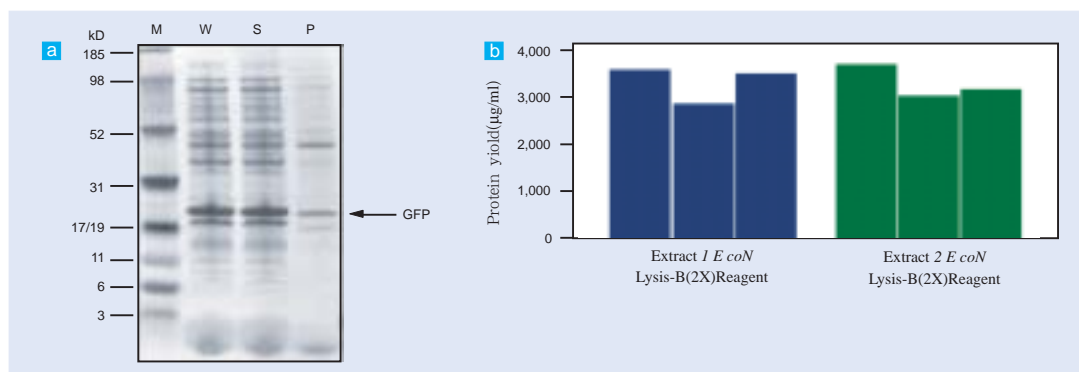


图1: 原核细胞裂解。(a) 大肠杆菌细胞中抽提的蛋白质进行 SDS-PAGE 分析。BL21 DE3 pLysS 细胞离心收集, 用含 cOmplete Protease Inhibitor Cocktail Tablets 的裂解液重悬。抽提到的蛋白质用 SDS-PAGE 和考马斯亮蓝染色分析 (5 µl/lane)。M 为分子量标准 Marker; W 为总蛋白片段; S 为上清液蛋白片段; P 为沉淀物的蛋白片段。(b) Lysis-B Reagent 的裂解效率。按照说明书使用 Lysis-B Reagent 处理 BL21 细胞。两种不同的裂解反应获得的总蛋白片段分别使用 Bradford 蛋白试剂进行三次测定 (50 µl 蛋白抽提液 + 2.5 mL Bradford reagent) 得到其产量。

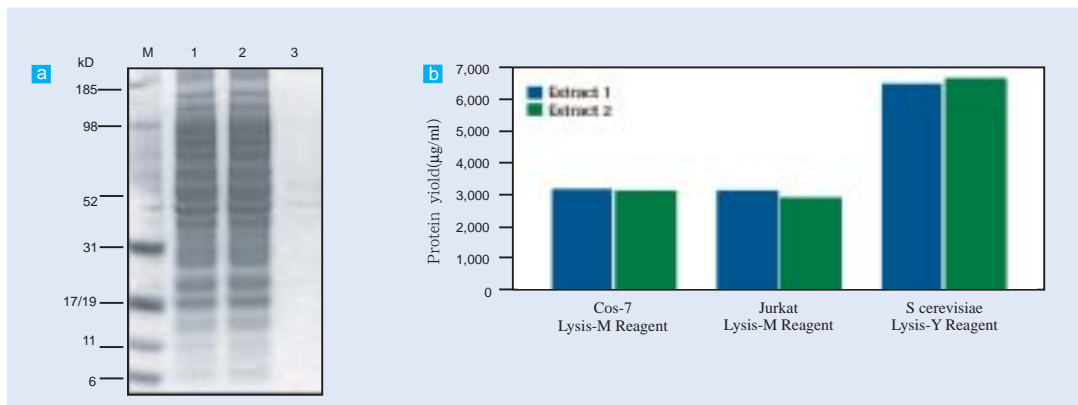


图2: 真核细胞裂解。(a) 从真核细胞抽提的蛋白质进行 SDS-PAGE 分析。用 Lysis-M Reagent 收集 Cos-7 细胞。抽提的蛋白质进行 SDS-PAGE 分析 (10µl/lane)。M 为分子量标准 Marker; Lane 1: 总蛋白片段; Lane 2: 上清液蛋白片段; Lane 3: 沉淀物的蛋白片段。(b) **c**Omplete Lysis-M Reagent 和 **c**Omplete Lysis-Y Reagent 的裂解效率。按照说明书, 使用 Lysis-M Reagent 处理 Cos7 和 Jurkat 细胞。按照说明书, 使用 500µl Lysis-Y reagent 重悬 130 mg *Saccharomyces cerevisiae* 细胞沉淀。两种不同裂解方法所得总蛋白质用水 1:5 稀释后通过 Bradford 方法两次测定得其产量(50 µl 蛋白抽提液加 2.5 ml Bradford reagent)

总蛋白抽提液也是用水按照 1: 5 稀释。

#### 高效裂解真核细胞并同时有效抑制蛋白酶作用

Lysis-M 和 -Y Reagent, 可以从多种细胞中高效抽提蛋白质。Lysis-M Reagent 适用于贴壁培养的哺乳动物细胞、悬浮培养哺乳动物细胞; Lysis-Y Reagent 则适用多种酵母菌株细胞和多种细菌细胞以及一系列格兰氏阳性菌(如: *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Bacillus subtilis*, *E.coli*)。

使用试剂盒中即取即用的 Lysis-M Reagent 和 **c**Omplete Protease Inhibitor Cocktail Tablets 一起裂解 Cos-7 猴肾细胞。细胞收集后用含有 **c**Omplete Protease Inhibitor Tablet 的 Lysis-M reagent 裂解重悬 (每 10 mL 裂解液 1 片)。图 2a 显示的是总蛋白质、上清液蛋白质和沉淀物蛋白片段 SDS-PAGE 电泳后, 考马斯亮蓝染色

的结果图。真核细胞的总蛋白产量通过 Bradford 蛋白试剂测定。在 Bradford 测定前, 所有细胞抽提物用水稀释 5 倍。Cos-7 细胞、Jurkat 细胞以及酵母 *S. cerevisiae* 细胞的产量如图 2b 所示。

#### **c**Omplete Lysis Kits 产品优势:

1. 即取即用的试剂方便、快捷、轻柔地裂解细菌、昆虫、哺乳动物和酵母细胞, 更加节约时间。
2. 获得高产量的蛋白质。
3. 不会导致蛋白变性, 不与蛋白相互作用的试剂保证蛋白质的完整性。
4. 实现无毒高效地抑制多种蛋白酶的降解作用 (如丝氨酸蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶以及金属蛋白酶等)。
5. 该类产品与下游处理所用的试剂兼容。

产品名称	包装规格	序列号
<b>c</b> Omplete Lysis-B(2x)	100 ml lysis reagent and 20 tablets*	04 719 930 001
<b>c</b> Omplete Lysis-B(2x),EDTA free	100 ml lysis reagent and 20 tablets**	04 719 948 001
<b>c</b> Omplete Lysis-M	200 ml lysis reagent and 20 tablets*	04 719 956 001
<b>c</b> Omplete Lysis-M,EDTA free	200 ml lysis reagent and 20 tablets**	04 719 964 001
<b>c</b> Omplete Lysis-Y	200 ml lysis reagent and 20 tablets*	04 719 972 001
<b>c</b> Omplete Lysis-Y,EDTA free	200 ml lysis reagent and 20 tablets**	04 719 999 001

\***c**Omplete, Mini, Protease Inhibitor Cocktail Tablets, \*\***c**Omplete, Mini, EDTA-free, Protease Inhibitor Cocktail Tablets.