

天
净
沙
系
列

CAT#:220503-100
低温运输, -20℃保存

BINGENE

5×被动裂解液

5×Passive Lysis Buffer

使用手册 V1.0

江苏天净沙基因诊断技术有限公司

网址: www.bingene.com; 电话: 400-6005850; 电邮: order@bingene.com

产品及特点	5×被动裂解液（Passive Lysis Buffer，PLB）专门用于裂解培养细胞，用于后续检测裂解物中荧光酶活性。它具有下列特点： 1. 原位对哺乳动物贴壁培养细胞进行快速裂解，无需对贴壁细胞进行刮擦或冻融循环。 2. 萤火虫光素酶的底物荧光素和海肾荧光素酶的底物腔肠素在本产品中的自发光极其微弱，故用本产品得到的细胞裂解物可以直接用于后续的萤火虫光素酶和海肾荧光素酶活性测定。 3. 跟多个厂家的荧光酶检测试剂盒兼容，包括本公司的一管式双荧光酶检测试剂盒(CAT#220501),Promega 的 Dual-Luciferase Reagent Assay System（CAT#E1910）和 Biotium 的 Firefly & Renilla Luciferase Single Tube Assay Kit（CAT#30081）。 4. 本产品只能用于科研。											
规格及成分	本产品使用塑料管包装											
	成份	编号	规格	包装材料								
	5×被动裂解液 (Passive Lysis Buffer)	220503	100 mL	100mL 本色瓶								
	使用手册	220503sc	1 份	无								
运输及保存	低温运输，-20℃保存，有效期一年。											
自备试剂	双蒸水，PBS											
使用方法	一、对 6 孔板-96 孔板中的培养细胞裂解 1. 将本产品5×被动裂解液用蒸馏水稀释至1×。虽然稀释后的1×被动裂解液可以在4℃放置1个月，但最好现用现配，用多少配多少。 2. 在多孔板中培养的细胞生长到不超过95%的汇合度的时候，吸弃培养基，小心用自备的PBS洗涤细胞一次。 3. 离心干甩一次，小心去除多孔板中残留的液体。 4. 每孔加入适量的1×被动裂解液，用移液枪吹打打散细胞。不同多孔板的1×被动裂解液加入量请参考下表： <table><tr><td>多孔板</td><td>最适被动裂解液加入量</td></tr><tr><td>6 孔板</td><td>500 uL</td></tr><tr><td>12 孔板</td><td>250 uL</td></tr><tr><td>24 孔板</td><td>100 uL</td></tr></table>				多孔板	最适被动裂解液加入量	6 孔板	500 uL	12 孔板	250 uL	24 孔板	100 uL
多孔板	最适被动裂解液加入量											
6 孔板	500 uL											
12 孔板	250 uL											
24 孔板	100 uL											

	48 孔板	65 uL
	96 孔板	20 uL

5. 室温摇床上缓慢摇15分钟进行细胞裂解。对过度生产的细胞，或少数没有过度生产的细胞株，裂解时间可能需要延长1倍。由于荧光酶在1×被动裂解液中比较稳定，活性并不会降低。

6. 可以直接在多孔板中进行后续的荧光酶检测。如果需要长期保存，可以将细胞裂解液吸至1.5 ml离心管, 4℃12000 rpm （13200g) 离心10 min, 将上清液（含荧光酶）转移到新的管子中。此上清液可以在常温放置6小时，在冰上可以放置16小时，在-20℃可以放置1月，在-80℃可以放置半年以上。用此上清液进行后续实验时，冻融次数不要超过3次，否则荧光酶的活性会逐渐降低。

二、对 12 孔板-培养瓶中的培养细胞裂解

1. 将本产品5×被动裂解液用蒸馏水稀释至1×。虽然稀释后的被动裂解液可以在4℃放置1个月，但最好现用现配，用多少配多少。

2. 在多孔板或培养瓶中培养的细胞生长到不超过95%的汇合度的时候, 吸弃培养基，小心用自备的PBS洗涤细胞一次。

3. 离心干甩一次，小心去除多孔板或培养瓶中残留的液体。

4. 每孔或每个培养瓶中加入适量的1×被动裂解液，用移液枪吹打，打散细胞。不同多孔板或培养瓶的1×被动裂解液加入量请参考下表：

多孔板和培养瓶	最适被动裂解液加入量
100×20mm 培养瓶	1000 uL
60×15mm 培养瓶	400 uL
35×12mm 培养瓶	200 uL
6 孔板	250 uL
12 孔板	100 uL

5. 用一次性细胞刮子充分刮落贴壁细胞。

6. 倾斜多孔板或培养瓶，待裂解物汇集后，再用移液枪充分吹打数次。

7. 将裂解物转移到新的容器中，直接进行后续测试。如果需要长期保存，可以将细胞裂解液吸至1.5 ml离心管，4℃12000 rpm （13200g) 离心10 min，将上清液（含荧光酶）转移到新的管子中。此上清液可以在常温放置6小时，在冰上可以放置16小时，在-20℃可以放置1月，在-80℃

	可以放置半年以上。用此上清液进行后续实验时，冻融次数不要超过3次，否则荧光酶的活性会逐渐降低。
关联产品	5×被动裂解液 2.0