

SDS 裂解液说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

产品简介：

多种成分均可以从细胞中提取总蛋白，例如 Triton、SDS、NP-40 等。SDS 裂解液 (SDS Lysis Buffer) 是一种余其强烈的细胞组织快速裂解液并获得总蛋白质。其裂解液强度大于 NP-40 裂解液、RIPA 裂解液(弱)、RIPA 裂解液(中)、通用细胞裂解液、Western 及 IP 细胞裂解液，所获得的蛋白质可以用于 Western、染色质免疫共沉淀(ChIP)等。

SDS Lysis Buffer 主要由 Tris-HCl、NaCl、SDS 等组成，并含有多种蛋白酶抑制剂成分，可以有效抑制蛋白的降解，并维持原有的蛋白间相互作用。

产品组成：

产品名称	规格	保存条件	说明书	有效期
SDS 裂解液	100ml	-20℃	1 份	1 年
SDS Lysis Buffer	100ml	-20℃	1 份	1 年
PMSF(100mM)	1.5ml	-20℃	1 份	1 年

操作步骤(仅供参考)：

(一)贴壁培养细胞

- 1、取 SDS Lysis Buffer 室温溶解混匀，使用前取适量裂解液加入 PMSF，使终浓度为 1mM。
- 2、去除贴壁细胞的培养液，用 PBS、NS 或无血清培养液清洗 1 次，低速离心，弃上清，留取沉淀。
- 3、按照 6 孔板每孔加入 150~250 μ l 含有 PMSF 的裂解液的比例加入 SDS Lysis Buffer。移液器轻轻吹打，使裂解液和细胞充分接触。通常裂解液作用于细胞 1~3s 内，细胞就会被裂解。如果是所提蛋白样品用于 CHIP，应置于冰上或 4℃裂解 15~30min。通常 6 孔板每孔细胞加入 150 μ l 裂解液已经足够，但如果细胞密度非常高可以适当加大裂解液的用量到 200~250 μ l。
- 4、10000~12000g，4℃离心 5~10min(如无低温离心机，室温下离心亦可)，取上清。
- 5、进行后续的 Western、染色质免疫共沉淀(ChIP)等操作。

(二)悬浮培养细胞

- 1、取 SDS Lysis Buffer 置于室温溶解混匀后，使用前取适量裂解液加入 PMSF，使其最终浓度为 1mM。
- 2、低速离心悬浮细胞，弃上清，收集沉淀。
- 3、用手指轻弹细胞，使其松散。按照 6 孔板每孔细胞加入 150~250 μ l 含有 PMSF 的裂解液的比例，加入 SDS Lysis Buffer。通常 6 孔板每孔细胞加入 150 μ l 裂解液已经足够，

但如果细胞密度非常高可以适当加大裂解液的用量到 200~250 μ l。再用手指轻弹以充分裂解细胞，充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。通常裂解液作用于细胞 1~3s 内，细胞就会被裂解。如果是所提蛋白样品用于 CHIP, 置于冰上或 4℃裂解 15~30min。

4、10000~12000g, 4℃离心 5~10min(如无低温离心机, 室温下离心亦可), 取上清。

5、进行后续的 Western、染色质免疫共沉淀(ChIP)等操作。

(三)组织样本

1、取 SDS Lysis Buffer 置于室温溶解混匀, 使用前取适量裂解液加入 PMSF, 使其最终浓度为 1mM。

2、把组织剪切成细小的碎片, 越小越好。

3、取在液氮或超低温冰箱中冷冻 30min 以上的组织, 迅速用液氮研磨, 研磨过程尽量控制在 1~2min 之内, 以减少蛋白的降解。

4、按 20mg 组织加入 150~250 μ l 裂解液的比例加入含有 PMSF 的裂解液。冰上或 4℃裂解 15~30min。如果是所提蛋白样品用于 CHIP, 置于冰上或 4℃继续裂解 10~20min。

5、步骤 3、4 亦可以采用如下过程: 按照每 20mg 组织加入 150~250 μ l 裂解液的比例加入含有 PMSF 的 SDS Lysis Buffer。用玻璃匀浆器或组织研磨器匀浆, 直至充分裂解, 过程尽量控制在 1~2min 之内, 以减少蛋白的降解。如果是所提蛋白样品用于 CHIP, 应置于冰上或 4℃继续裂解 10~20min。

6、10000~12000g, 4℃离心 5~10min(如无低温离心机, 室温下离心亦可), 取上清。

7、进行后续的 Western、染色质免疫共沉淀(ChIP)等操作。

注意事项:

1、去除贴壁细胞的培养液后, 如果血清中的蛋白没有干扰, 可以不用清洗。

2、如果裂解不充分可以适当增加裂解液的用量, 如果需要高浓度的蛋白样品, 可以适当减少裂解液的用量。

3、在培养细胞的裂解中, 如果细胞量较多, 必需分装成 50-100 万细胞/离心管, 然后再裂解。少量的细胞由于裂解液容易和细胞充分接触, 相对比较容易裂解充分。

4、如果组织样品本身非常细小, 可以适当剪切后直接加入裂解液裂解, 通过强烈 Vortex 使样品裂解充分。然后同样离心取上清, 用于后续实验。直接裂解的优点是比较方便, 不必使用匀浆器, 缺点是不如使用匀浆器那样裂解得比较充分。

5、溶解 SDS Lysis Buffer 时, 应尽量缩短溶解时间, 避免裂解液中的有效成分失效。

6、细胞裂解的操作步骤, 应置于冰上或 4℃进行。