

SDS 裂解液

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) 是一种极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。

Leagene 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。该试剂仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称	编号	Storage	
	PS0015		
试剂(A): SDS Lysis Buffer	100ml	4°C	
试剂(A): PMSF(100mM)	1.5ml	-20°C	
使用说明书	1 份		

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°C 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°C 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 $^{\circ}$ C 裂解 15 ~ 30min。
- 4、10000 ~ 12000g，4 $^{\circ}$ C 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 $^{\circ}$ C 裂解 15 ~ 30min；如果是所提蛋白样品用于 CHIP，置于冰上或 4 $^{\circ}$ C 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 $^{\circ}$ C 继续裂解 10 ~ 20min。
- 6、10000 ~ 12000g，4 $^{\circ}$ C 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 $^{\circ}$ C 进行。
- 7、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期：12 个月有效。低温运输，按要求保存。