



SDS 裂解液

产品货号: AR0095

产品名称: SDS 裂解液

产品批号: 见外包装标签

产品规格: 100ml

保存条件: -20℃保存, 一年有效。

产品说明:

SDS 裂解液是一种比较强烈的细胞组织裂解液。SDS 裂解液裂解得到的蛋白样品可以用于常规的 Western, ChIP 等。

SDS 裂解液的主要成分为 50mM Tris (PH 8.1), 1% SDS, 以及焦磷酸钠, β -甘油磷酸, 正钒酸钠, 氟化钠, EDTA, leupeptin 等多种抑制剂。可以有效抑制蛋白降解。

注意事项:

- 1.为取得最佳的使用效果, 尽量避免过多的反复冻融。可以适当分装后使用。
- 2.裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4℃进行。
- 3.需自备 PMSF。
- 4.用 SDS 裂解液裂解得到的蛋白样品, 可以用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度。由于含有较高浓度的去垢剂, 不能用 Bradford 法测定由本裂解液裂解得到的样品的蛋白浓度。
- 5.裂解产物中经常会出现一小团透明胶状物, 属正常现象。若透明胶状物不能离心下来, 则可以通过超声处理该透明胶状物, 随后离心取上清用于后续实验。

使用说明:

对于培养细胞样品:

- 1.完全融解 SDS 裂解液, 混匀。取适当量的裂解液, 在使用前数分钟内加入 PMSF, 使 PMSF 的最终浓度为 1mM。
- 2.对于贴壁细胞: 去除培养液, 用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗一遍(如果血清中的蛋白没有干扰, 可以不洗)。按照 6 孔板每孔加入 150-250 微升裂解液的比例加入裂解液。用枪吹打数下, 使裂解液和细胞充分接触。通常裂解液接触细胞 1-2 秒后, 细胞就会被裂解。如果用于 ChIP, 初步裂解后需在冰浴上继续裂解 10 分钟。



对于悬浮细胞:

离心收集细胞，用手指把细胞用力弹散。按照 6 孔板每孔细胞加入 150-250 微升裂解液的比例加入裂解液。再用手指轻弹以充分裂解细胞。如果细胞量较多，必需分装成 50-100 万细胞/管，然后再裂解。充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。如果用于 ChIP，初步裂解后需在冰浴上继续裂解 10 分钟。

注意：低温裂解的时候，裂解液中的 SDS 会析出，此时可以不做任何处理，待裂解时间快到了的时候，可以预留 1-2 分钟，将裂解液置于室温，等 SDS 完全溶解后再离心。

3. 充分裂解后，10000-14000g 离心 3-5 分钟，取上清，即可进行后续的 PAGE、Western 和 ChIP 等操作。

裂解液用量说明：通常 6 孔板每孔细胞加入 150 微升裂解液已经足够，但如果细胞密度非常高可以适当加大裂解液的用量到 200 微升或 250 微升。如果用于 ChIP，建议 6 孔板每孔细胞至少加入 200 微升裂解液。

对于组织样品:

1. 把组织剪切成细小的碎片。

2. 完全融解 SDS 裂解液，混匀。取适当量的裂解液，在使用前数分钟内加入 PMSF，使 PMSF 的最终浓度为 1mM。

3. 按照每 20 毫克组织加入 150-250 微升裂解液的比例加入裂解液。（如果裂解不充分可以适当添加更多的裂解液，如果需要高浓度的蛋白样品，可以适当减少裂解液的用量）

4. 用玻璃匀浆器匀浆，直至充分裂解。如果用于 ChIP，初步裂解后需在冰浴上继续裂解 10 分钟。

注意：低温裂解的时候，裂解液中的 SDS 会析出，此时可以不做任何处理，待裂解时间快到了的时候，可以预留 1-2 分钟，将裂解液置于室温，等 SDS 完全溶解后再离心。

5. 充分裂解后，将裂解液转入离心管，10000-14000g 离心 3-5 分钟，取上清，即可进行后续的 PAGE、Western 和 ChIP 等操作。