

SDS 裂解液

目录编号: T16008

产品规格: 100ml

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。

尚宝生物 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:

产品组成	规格	保存温度
SDS Lysis Buffer	100ml	-20℃
PMSF(100mM)	1.5ml	-20℃

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



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719779

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: shsunbao@126.com

http://www.saint-bio.com

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 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。

有效期: 12 个月有效。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719779

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: shsunbao@126.com

<http://www.saint-bio.com>