



SDS 裂解液

包装清单

Cat No.	组分	包装规格-100mL
MCK-0017	SDS 裂解液	100 mL
	说明书	1 份

产品简介

默科生产的 SDS 裂解液(SDS Lysis Buffer)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 PAGE、Western、免疫沉淀(immunoprecipitation, IP)、免疫共沉淀(co-IP)和 ELISA 等。本产品可以用于动物、植物的细胞或组织样品,也可以用于真菌或细菌样品。

SDS 裂解液的主要成分为 50mM Tris (pH8.1), 1% SDS, 以及 sodium pyrophosphate, β -glycerophosphate, sodium orthovanadate, sodium fluoride, EDTA, leupeptin 等多种抑制剂。可以有效抑制蛋白降解。

用 SDS 裂解液裂解得到的蛋白样品, 可以用默科生产的 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样品的蛋白浓度。

保存条件

-20℃ 保存, 有效期 1 年。

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. 需自备 PMSF。
3. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4℃ 进行。
4. 如果使用本 SDS 裂解液用于 ChIP 实验, 在对超声后基因组 DNA 大小进行检测时, 如果采用琼脂糖凝胶中添加 NA-Red、NA-Green、Gel-Red 或 Gel-Green 等安全染料或使用含该类安全染料的 DNA 上样缓冲液的方式, 由于电泳时 SDS 会与此类染料结合形成异常条带, 条带通常在 600-1000bp 左右, 因此会对超声后基因组 DNA 大小的判断造成一定的影响。建议采用“电泳完毕后对琼脂糖凝胶染色”的方式进行条带大小的检测, 使用该方法不会有异常条带出现, 不影响对超声后基因组 DNA 大小的判断, 而且条带大小更准确。
5. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
6. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明

1. 对于培养细胞样品

(1) 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, 或者根据实验需要加入适当的上述蛋白酶抑制剂混合物。

(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 μ L 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。通常裂解液接触动物细胞 1-2 秒后, 细胞就会被裂解。植物细胞宜在冰上裂解 2-10min。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, 轻轻 vortex 或者弹击管底以把细胞尽量分散开。按照 6 孔板每孔细胞加入 150-250 μ L 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。

对于细菌或酵母: 对于 1mL 菌液或酵母液, 离心去上清, 如果有必要可以使用 PBS 洗涤一次, 充分去除液体后, 轻轻 vortex 或者弹击管底以把细菌或酵母尽量分散。加入 100-200 μ L 裂解液, 轻轻 vortex 或者弹击管底以混匀, 冰上裂解 2-10min。如果希望获得更好的裂解效果, 细菌和酵母可以分别使用溶菌酶和破壁酶(Lyticase)消化, 然后再使用本裂解液进行裂解。

裂解液用量说明: 通常 6 孔板每孔细胞或者 1mL 的菌液或酵母液中的细菌和酵母量加入 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 μ L 或 250 μ L。每 100 万动物细胞用 100 μ L 本产品裂解后获得的上清, 其蛋白浓度约为 2-4mg/mL, 不同细胞有所不同。

(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。

2. 对于组织样品

(1) 把组织剪切成细小的碎片。

(2) 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, 或者根据实验需要加入适当的上述蛋白酶抑制剂混合物。



(3) 按照每 20mg 组织加入 150-250 μ L 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, 或使用手持式组织研磨仪研磨, 直至充分裂解。也可以把组织样品冷冻后液氮研磨, 研磨充分后加入裂解液进行裂解。如果用于 ChIP, 初步裂解后需在冰浴上继续裂解 10 分钟。

(5) 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。每 20mg 冻存的小鼠肝脏组织用 200 μ L 本裂解液裂解后获得的上清, 其蛋白浓度约为 15-25mg/ml, 不同状态的不同组织有所不同。

(6) 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, 不必使用匀浆器或研磨设备, 缺点是不如匀浆或研磨那样裂解得比较充分。