

SDS 裂解液

货号: NGP076 100ml

储存事项:-20℃保存, 有效期 12 个月。

试剂盒组成	保存	100ml
SDS 裂解液	-20℃	100 ml
PMSF (100×)	-20℃	1ml

产品介绍:

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(immunol precipitation, IP)、免疫共沉淀(co-IP)和 ELISA 等。

用 SDS 裂解液裂解得到的蛋白样品, 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,

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.关于裂解液的选择, 需要通过一些预实验来摸索最佳的适合您实验条件的裂解液。
- 4.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。

操作步骤: (实验前请先阅读注意事项)

1. 对于培养细胞样品:

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磷酸酶抑制剂混合物。

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 微升裂解液的比例加入裂解液。再用手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弹散。加入 100-200 微升裂解液, 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 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。每 100 万动物细胞用 100 微升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。

c. 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:

a. 把组织剪切成细小的碎片。

b. 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磷酸酶抑制剂混合物。

c. 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。)

d. 用玻璃匀浆器匀浆, 或使用碧云天生产的 E6600 TissueMaster™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。



e. 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 微升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。

f. 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。

