



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: www.shyuanye.com  
邮箱: shyysw@sina.com

## SDS 裂解液

货号: R21984

规格: 100ml

保存温度: -20℃ 保存, 有效期 12 个月。

### 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。

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。

### 组成:

名称	编号	Storage
试剂(A): SDS Lysis Buffer	R21984 100ml	-20℃
试剂(B): PMSF(100mM)	1.5ml	-20℃
说明书	一份	

### 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 $\mu$ 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 $^{\circ}$ C 裂解 15~30min，通常 6 孔板每孔细胞加入 150 $\mu$ 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 $\mu$ l。

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。

## (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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ l 裂解液的比例加入含有 PMSF 的裂解液。冰上或 4℃ 裂解 15~30min; 如果是所提蛋白样品用于 CHIP, 置于冰上或 4℃ 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 $\mu$ 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℃ 继续裂解 10~20min。
- 6、10000~12000g, 4℃ 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℃ 进行。