

## SDS 裂解液说明书

### AP0761

#### 保存条件

-20°C 保存，一年有效。

#### 产品信息

产品名称	产品货号	规格
SDS 裂解液	AP0761	100mL

#### 产品简介

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。

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,  $\beta$ -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，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。

#### 产品内容

产品编号	产品名称	包装
AP0761	SDS 裂解液	100mL

#### 使用方法

##### 1. 对于培养细胞样品：

a. 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。

b. 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。

### 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°C 进行。
- 4.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。
- 5.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、NAGreen、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。
- 6.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。
- 7.为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。