



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// www.real-tims.com.cn

E-mail: real-times@vip.163.com

SDS 裂解液

● 产品包装:

货号	名称	规格
RL1060	SDS 裂解液	100 ml

● 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,其主要成分是 Tris (pH8.0), SDS, EDTA 等。该裂解液可以提取组织和细胞的总蛋白,尤其适合于组织蛋白的提取。SDS 裂解液裂解得到的蛋白样品可以用于常规的 Western Blot 实验。由于 SDS 裂解液有较强的裂解能力,IP 或 Co-IP 实验不建议使用该裂解液。由于含有较高浓度的 SDS 等干扰物质,不能用传统 Bradford 法测定由本裂解液裂解得到样品的蛋白浓度,可以使用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒(货号: RTP7102)或 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒(去垢剂兼容型)(货号: RTP7104)测定蛋白浓度。

● 贮存、效期及运输:

常温保存;有效期 2 年;常温运输。

● 使用说明:

1. 准备 SDS 裂解液:

取适当量的裂解液,在使用前数分钟内加入 1/100 体积的 100 mM PMSF (货号: PM1790),使 PMSF 的最终浓度为 1 mM;如进行磷酸化检测,需添加磷酸酶抑制剂。

注:以下操作需保持低温或冰浴操作。

2. 细胞蛋白提取:

2.1 贴壁细胞: 去除培养液,加入适量 1×PBS,轻柔漂洗一遍,不要扰动贴壁细胞。按照 6 孔板每孔加入 100-200 μl 裂解液的比例加入裂解液,移液器吹打数下,使裂解液和细胞充分接触,用细胞刮刀刮下细胞收集于 1.5 ml 离心管中。

培养板规格/培养皿表面积	细胞量	裂解液推荐使用量
100 mm 培养皿	1.5×10^7	0.5-1 ml
60 mm 培养皿	5×10^6	0.25-0.5 ml
35 mm 培养皿	2×10^6	0.2-0.4 ml
6 孔板	2.5×10^6	100-200 μl
24 孔板	5×10^5	100-150 μl
96 孔板	1×10^5	50-100 μl

2.2 悬浮细胞: 450 g 4℃ 离心 5 min 收集细胞;用适量 1×PBS 重悬细胞,450 g 4℃ 离心 5 min 收集细胞;重复漂洗细胞一次;按照细胞沉淀体积 (PCM) 20 μl 加入 200 μl 裂解液的比例加入 SDS 裂解液,混匀细胞沉淀。

注： 2×10^6 Jurkat细胞，其细胞沉淀体积（PCM, Packed Cell Volume）大约为20 μl 。

2.3 裂解细胞：

2.3.1 由于裂解物会比较粘稠，裂解混合物需要超声波处理（超声条件根据仪器调整）；如没有超声破碎仪，可以使用注射器用27G针头处理裂解物10-15次（货号：PE2719，蛋白提取针头套装），以彻底裂解细胞。

注：裂解中细胞会释放出变性的核酸，呈团状粘稠透明样，如不进行超声或针头裂解处理，会导致裂解物非常粘稠，大大降低蛋白提取的得率和纯度。

2.3.2 裂解物冰浴处理10分钟，间歇混匀。

2.4 离心收集上清：

充分裂解后， 4°C 16000 g离心10分钟，取上清，即可进行后续的PAGE、Western等操作。

3. 组织蛋白提取：

3.1 手术切除的组织块迅速置于预冷的生理盐水中，漂洗数次，洗净组织血迹，用滤纸吸干组织表面液体，将组织切成细小的碎片。

3.2 按照每20 mg组织加入200 μl 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。）

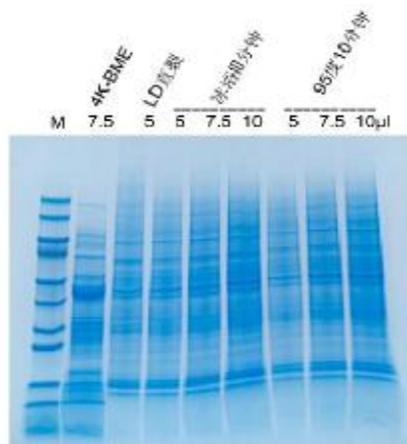
3.3 用玻璃匀浆器匀浆5-10次，收集匀浆后的裂解混合物，超声波处理（超声条件根据仪器调整）；如没有超声破碎仪，可以使用注射器用27G针头处理裂解物10-15次（货号：PE2719，蛋白提取针头套装），以彻底裂解细胞。

注：裂解中细胞会释放出变性的核酸，呈团状粘稠透明样，如不进行超声或针头裂解处理，会导致裂解物非常粘稠，大大降低蛋白提取的得率和纯度。

3.4 裂解物冰浴处理10分钟，间歇混匀。

3.5 常温16000 g离心10分钟，取上清，即可进行后续的PAGE、Western等操作。

● 实验示例：



4-18% RealPAGE 预制胶

电泳条件：1×TGS 稳压 200V 38-13mA 50min;染色：FastBlue 蛋白染色液染色 30min。

样品 1 (LD 直裂)：2 ml K562 细胞 ($6.5 \times 10^6/\text{ml}$)，3000rpm 5min，沉淀用 PBS 清洗 1 次，离心后彻底去除 PBS，

加入 130 μ l 超纯水, 100 μ l 5 \times loading buffer(变性, 还原), 95 度 10 min, 上样 5 μ l。

样品 2 (4K-BME): 1 ml 4K 细菌细胞 (O/N 培养), 13000 rpm 5min, 离心后彻底去除残余液体, 加入 130 μ l 超纯水, 100 μ l 5 \times loading buffer, 95 度 10min, 上样 7.5 μ l。

样品 3: 1 ml K562 细胞 (5×10^6 /ml), 3000 rpm 5 min, 沉淀用 PBS 清洗 1 次, 离心后彻底去除 PBS, 加入 500 μ l SDS 裂解缓冲液, 超声处理 (10%功率, 开 5S, 关 10S, 2min), 冰浴 10 min 或 95 度 10min, 间歇混匀, 13000 rpm 低温离心 10 min, 取上清即为总蛋白。加入 5 \times loading buffer(变性,还原)调整样品浓度为 2 μ g/ μ l, 95 度 5min, 上样 5, 7.5 和 10 μ l。