

SDS 裂解液使用说明书

货号: R0070

规格: 100ml

保存: -20 °C 保存, 有效期 1 年。

使用说明:

如发现 SDS 有沉淀, 请放室温半小时或者常温水浴使沉淀溶解。

根据使用量, 取每 1ml SDS 加入 10ul PMSF, 使 PMSF 的最终浓度为 1mM。混匀备用 (PMSF 现用现加)。样本裂解均需要冰上或低温操作, 裂解时间 20-30 分钟。

1、样品前处理:

a)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 150-250ul 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。通常裂解液接触细胞 1-2 秒后, 细胞就会被裂解。如果用于 ChIP, 初步裂解后需在冰浴上继续裂解 10 分钟。

b)对于悬浮细胞: 离心收集细胞, 用手指把细胞用力弹散。按照 6 孔板每孔细胞加入 150-250ul 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。

c)对于组织样品: 把组织剪切成细小的碎片。按照每 20mg 组织加入 150-250 ul 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)。用玻璃匀浆器匀浆, 直至充分裂解。如果用于 ChIP, 初步裂解后需在冰浴上继续裂解 10 分钟。

2、后处理:

将裂解后的样品 10000-14000g 离心 3-5 分钟, 取上清, 即可进行后续蛋白浓度测定、SDS-PAGE、Western blotting 和 ChIP(染色质免疫共沉淀, chromatin immunoprecipitation)等操作。

注意事项:

本试剂为强烈型裂解液, 可以提取核蛋白, 但在提取核蛋白的同时, 也会将基因组一并释放出来, 若细胞量多会造成细胞裂解液粘稠: 此时可以超声打断基因组或者直接加入蛋白上样缓冲液, 煮沸再离心, 离心后直接上样电泳; 本系列蛋白提取试剂所提取的蛋白由于含有去污剂, 所以不适合使用 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒, 请选择 BCA 法检测蛋白浓度。

如果需要检测和基因组结合特别紧密的蛋白, 则可以通过超声处理打碎打散粘稠状物, 随后离心取上清用于后续实验。