

1% SDS Hot Lysis Buffer 使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
ED-8781	1% SDS Hot Lysis Buffer	100mL
	使用说明书	1 份

【保存条件】

室温保存，有效期 12 个月

【概述】

1% SDS Hot Lysis Buffer 专为高效提取全细胞蛋白而设计。

作用原理：通过 95°C 高温与 1% SDS 的协同作用，迅速破坏细胞膜及核膜，使蛋白质一级结构完全展开。

产品优势：

- 1. 提取彻底：**特别适用于常规裂解液（如 RIPA）难以提取的胞核蛋白、膜蛋白及不溶性支架蛋白。
- 2. 背景干扰低：**减少了蛋白降解产生的杂带，提高 WB 实验的条带清晰度。

【使用方法】

I. 准备工作

1. 配制工作液：根据用量，按 1:100 比例在裂解液中加入蛋白酶抑制剂（推荐 ES-8135 蛋白酶抑制剂混合物 Cocktail(通用型, 100×)）混匀备用（现用现配）。

例如：1 mL 裂解液+10 μL 抑制剂，现用现配。

2. 预热：将配好的裂解液置于水浴锅或干浴器中加热至 90–95°C。

II. 细胞/组织提取流程

1. 样本预处理：

a. 细胞样本：使用细胞刮刀将细胞刮下（避免使用胰酶，以免降解蛋白），离心（300-500 g，5 min）收集沉淀，PBS 再洗涤两次。

b. 组织样本：取新鲜或冻存组织，切成极微小的碎片。推荐在液氮中研磨成粉末，或使用匀浆器预破碎。

2. 热裂解：立即向样本中加入预热至 95°C 的含抑制剂的裂解液（每 10⁶ 细胞或每 20 mg 组织约加入 150–250 μL），立即剧烈震荡。

3. 变性：置于 90–95°C 加热 10-20 分钟。期间每隔 3 分钟涡旋震荡一次。

4. **超声（关键）**：此时溶液可能会因基因组 DNA 释放而变得极度黏稠。需进行超声剪切（40 kW，持续 3s/间隔 3s，循环 25–30 次），直至液体变为澄清透明。
5. **离心**：室温下最大转速（ $\geq 12,000$ g）离心 5–10 分钟。
6. **收集蛋白**：小心吸取上清液（蛋白质）至新离心管，弃去沉淀（沉淀物主要为未裂解完全的结缔组织或大分子杂质）。
7. **蛋白浓度检测**：上清蛋白质可用 EK-5001 BCA 定量方法或 EK-5004 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒(去垢剂兼容型)检测蛋白浓度。

【注意事项】

1. **溶解结晶**：若试剂盒内存有析出（低温下易析出），必须加热至完全溶解后再取用，否则会导致 SDS 浓度不足影响裂解效率。
2. **黏稠度排查**：若离心后上清仍呈胶冻状，说明 DNA 剪切不充分，请适当延长超声时间。
3. **安全防护**：裂解液具腐蚀性且操作涉及高温，请务必佩戴实验手套、实验服及防护眼镜。仅限实验室科研使用，严禁用于临床医疗、诊断或食品药品添加。