



微量细胞裂解液说明书

本产品是一种用于破坏细胞膜并释放细胞内物质的溶液，可快速裂解各种培养的动物细胞，并提取基因组DNA的裂解液。细胞经过本裂解液处理后可直接用作普通PCR反应的模板，无需额外的纯化步骤，从而有效地减少了纯化过程中可能出现的样品间的交叉污染，确保实验结果的正确性。

【基本信息】

货号	GC231000459
规格	5mL/10mL
储存条件	2°C-8°C保存，有效期 2 周，应避免长时间室温放置。
	-20°C保存，有效期 6 个月，应避免反复冻融。

【使用说明】

（一）实验步骤

A. 96 孔板贴壁细胞的使用步骤：

1. 实验前向96孔板中接种 $1-2 \times 10^4$ 细胞。根据实验要求将细胞培养适当时间，确保细胞没有过度生长或处于休止期。
2. 实验时用枪头尽量吸干净培养皿中的培养基。
3. 向培养皿各孔中分别添加200 μ l的PBS Buffer（自备），轻轻摇匀，再用枪头尽量吸尽PBS。
4. 向各孔中添加30 μ l微量细胞裂解液，用枪头吹打均匀，封口膜封好96孔板，55°C金属浴或水浴，孵育30分钟。
5. 95°C金属浴或水浴10分钟，然后冷却至室温。
6. 使用上述操作得到的微量细胞裂解产物即可作为PCR反应的模板。

B. 悬浮细胞的使用步骤：

1. 实验的当天将含有 $1-2 \times 10^4$ 细胞的培养液转移到适当容量的离心管中。
2. 8000x rpm，离心5分钟。用P-200移液枪头在不接触到细胞沉淀的前提下尽可能地移走全部上层培养基。
3. 向离心管中添加200 μ l的PBS Buffer，不必震荡混匀。
4. 8000x rpm，离心5分钟。用枪头尽量吸尽PBS。

[基因修饰细胞（敲除、敲入、点突变）](#) [基础实验服务（动物实验、载体构建）](#)

[病毒包装（慢病毒、非整合慢病毒、腺病毒、腺相关病毒、病毒样颗粒蛋白、脂质体纳米颗粒）](#)

[试剂（常规试剂、感受态、基因敲除敲入点突变试剂盒、滴度检测试剂盒）](#)



5. 向各孔中添加30μl微量细胞裂解液，快速震荡混匀或用移液枪头上下吸取5次使样本和试剂混匀。
6. 封口膜封好96孔板，55℃金属浴或水浴30分钟。然后转移至另一台水浴锅，95℃金属浴或水浴10分钟，然后冷却至室温。
7. 使用上述操作得到的微量细胞裂解产物即可作为PCR反应的模板。

(二) 贴壁细胞接种量和各试剂的单孔使用量：

培养皿	贴壁细胞接种密度	PBS Buffer 用量 (μl)	微量细胞裂解液用量 (μl)
96-孔板	1 - 2x10 ⁴	200	30
48-孔板	2 - 5x10 ⁴	400	60
24-孔板	0.6 - 1.3x10 ⁵	800	120
12-孔板	1.3 - 2.6x10 ⁵	1000	240
6-孔板	3 - 6x10 ⁵	2000	480

(三) 实验中可能出现的问题及其解决方法

1. 若直接使用未稀释的DNA模板进行PCR反应，发现没有PCR产物或PCR条带出现弥散等现象，建议首先调整DNA模板用量。例如，使用ddH₂O 或 TE Buffer（自备）对裂解得到的DNA模板进行稀释，比例可为 1: 1 或 1: 2 (DNA 模板：稀释液)，然后在20μl PCR体系中分别加入 1μl、2μl、3μl 稀释后的DNA模板作为优化条件。
2. 设立阳性及阴性对照反应以发现问题所在。阳性反应可用50ng纯化的细胞DNA为模板，阴性反应以ddH₂O 为模板，引物可采用以前成功扩增的引物。

具体情况可参考下表：

问题	产生问题的原因	解决问题的方法
没有PCR产物	引物降解	重新配制适当浓度引物。
	DNA模板浓度过高	用1-2 倍体积TEBuffer稀释模板，再取1-3 μl 模板进行PCR反应。
	裂解液保存不当，试剂失效	若计划间歇性使用可将试剂进行分装保存于-20℃。解冻后可以存放在4℃一个星期左右。
	细胞过多，导致裂解不完全	减少细胞用量，或增加细胞在55℃水浴裂解时间。
	模板冷藏、冰冻保存后基因组DNA产生积聚	模板最好现做现用，也可暂时存放4℃，或-20℃长期保存，但冷藏后的模板再次使用前建议重新放入95℃水浴中10分钟。
	未进行 95℃水浴直接使用模板	55℃水浴30分钟，然后95℃水浴10分钟。

【注意事项】

- 在贴壁细胞的操作步骤中，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。
- 如果裂解不充分可以适当增加微量细胞裂解液的用量。
- 裂解的所有步骤都可在冰上或者4℃进行。

[基因修饰细胞（敲除、敲入、点突变）](#) [基础实验服务（动物实验、载体构建）](#)

[病毒包装（慢病毒、非整合慢病毒、腺病毒、腺相关病毒、病毒样颗粒蛋白、脂质体纳米颗粒）](#)

[试剂（常规试剂、感受态、基因敲除敲入点突变试剂盒、滴度检测试剂盒）](#)



- 为了您的健康和安全，请穿实验服并戴一次性手套操作。



- 扫码关注基恩科生物公众号获取更多资讯
- Website www.genecarer.com
- Service hotline 029-84613682

[基因修饰细胞（敲除、敲入、点突变）](#) [基础实验服务（动物实验、载体构建）](#)

[病毒包装（慢病毒、非整合慢病毒、腺病毒、腺相关病毒、病毒样颗粒蛋白、脂质体纳米颗粒）](#)

[试剂（常规试剂、感受态、基因敲除敲入点突变试剂盒、滴度检测试剂盒）](#)