Triton X-100 细胞裂解液

产品简介:

Triton X-100 细胞裂解液是一种经典的快速裂解细胞组织并获得蛋白的裂解液，所获得的蛋白质可以用于 PAGE 电泳，Western，免疫沉淀(Immunol Precipitation，IP)和免疫共沉淀(co-IP)等，由 Triton X-100、NaCl、Tris-HCl 等组成，并含有多种蛋白酶抑制剂成分，可以有效抑制蛋白的降解，并维持原有的蛋白间相互作用，作用原理是利用去污剂 Triton X-100 破坏脂质双分子层，溶解胞质和细胞膜，破坏分子间微弱结合键的大部分蛋白质抗原，其浓度在 0.1%～1%时即可满足几乎所有溶解的需求，且可补充等离子浓度的盐及使 pH 接近中性，不宜用 Bradford 法测定由 Triton X-100 Lysis Buffer 获得样本的蛋白浓度。该试剂仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

编号 / 名称	GCPS0016	Storage
试剂(A): Triton X-100 Lysis Buffer	100ml	4℃
试剂(A): PMSF(100mM)	1.5ml	-20℃
使用说明书	1 份	

操作步骤(仅供参考):

(一)贴壁培养细胞

1、 取 Triton X-100 Lysis Buffer 室温溶解混匀，加入 PMSF，使 PMSF 终浓度为 1mM。
2、 去培养液，用 PBS、NS 或无血清培养液清洗 1 次，低速离心，弃上清，留取沉淀。
3、 按照 6 孔板每孔加入 150～250μl 含有 PMSF 的裂解液的比例加入 Triton X-100 Lysis Buffer，移液器轻轻吹打，使裂解液和细胞充分接触，置于冰上或 4℃裂解，通常裂解液作用于细胞 1～3s 内，细胞就会被裂解；通常 6 孔板每孔细胞加入 150μl 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 200～250μl。
4、 10000～12000g，4℃离心 5～10min(如无低温离心机，室温下离心亦可)，取上清。
5、 进行后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

(二)悬浮培养细胞

1、 取 Triton X-100 Lysis Buffer 室温溶解混匀，加入 PMSF，使 PMSF 终浓度为 1mM。
2、 低速离心悬浮细胞，弃上清，收集沉淀。
3、 用手指轻弹细胞，使其松散，按照 6 孔板每孔细胞加入 150～250μl 含有 PMSF 的裂解液的比例，加入 Leagene Triton X-100 Lysis Buffer；通常 6 孔板每孔细胞加入 150μ

l 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 200～250μl，再用手指轻弹以充分裂解细胞，充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。

4、 10000～12000g，4℃离心 5～10min(如无低温离心机，室温下离心亦可)，取上清。

5、 进行后续的 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

(三)组织样本

1、 取 Triton X-100 Lysis Buffer 室温溶解混匀后，加入 PMSF，使 PMSF 终浓度为 1mM。

2、 把组织剪切成细小的碎片，越小越好。

3、 取在液氮或超低温冰箱中冷冻 30min 以上的组织，迅速用液氮研磨，研磨过程尽量控制在 1～2min 之内，以减少蛋白的降解。

4、 按照每 20mg 组织加入 150～250μl 裂解液的比例加入含有 PMSF 的裂解液，冰上或 4℃裂解 15～30min。

5、 步骤 3、4 亦可以采用如下过程：按照每 20mg 组织加入 150～250μl 裂解液的比例加入含有 PMSF 的 Triton X-100 Lysis Buffer，用玻璃匀浆器或组织研磨器匀浆，直至充分裂解，该过程尽量控制在 1～2min 之内，以减少蛋白的降解。

6、 10000～12000g，4℃离心 5～10min(如无低温离心机，室温下离心亦可)，取上清。

7、 进行后续的 PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

注意事项：

1、 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。

2、 如果裂解不充分可以适当增加裂解液的用量，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、 如果细胞量较多，必需分装成 50～100 万细胞/离心管，然后再裂解。大团的细胞较难裂解充分，而少量的细胞由于裂解液容易和细胞充分接触，相对比较容易裂解充分。

4、 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，缺点是不如使用匀浆器那样裂解得比较充分。

5、 溶解 Triton X-100 Lysis Buffer 时，应尽量缩短溶解时间，避免有效成分失效。

6、 裂解产物中经常会出现一小团透明胶状物，属正常现象。该透明胶状物为含有基因组 DNA 等的复合物；在不检测和基因组 DNA 结合特别紧密的蛋白的情况下，可以直接离心取上清用于后续实验；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该透明胶状物，随后离心取上清用于后续实验；如果检测一些常见的转录因子，例如 NF-KB、p53 等时，通常不必进行超声处理，就可以检测到这些转录因子。

7、 细胞裂解的操作步骤，应置于冰上或 4℃进行。

8、 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期： 12 个月有效。低温运输，按要求保存。