

Triton X-100细胞裂解液

产品货号: T15196

产品规格: 100ml

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。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。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
Triton X-100 Lysis Buffer	100ml	-20℃
PMSF(100mM)	1.5ml	-20℃

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150~250 μ l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150 μ l裂解液已足够, 但如果细胞密度非常高可以适当加大裂解液的用量到200~250 μ l。
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150~250 μ l含有PMSF的裂解液的比例, 加入尚宝生物Triton X-100 Lysis Buffer。通常6孔板每孔细胞加入150 μ 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200~250 μ l。
4. 再用手轻弹以充分裂解细胞, 充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。
5. 10000~12000g, 4℃离心5~10min(如无低温离心机, 室温下离心亦可), 取上清。
6. 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150~250 μ l裂解液的比例加入含有PMSF的裂解液。冰上或4℃裂解15~30min。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

5. 步骤3、4亦可以采用如下过程:按照每20mg组织加入150~250 μ l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 $^{\circ}$ C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 $^{\circ}$ C进行。

有效期: 12个月有效。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>