

Triton X-100 细胞裂解液

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。

组成:

名称	编号	R21239	Storage
试剂(A): Triton X-100 Lysis Buffer		100ml	-20℃
试剂(B): PMSF(100mM)		1.5ml	-20℃
说明书		一份	

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 150~250 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°C 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°C 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 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, 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°C 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°C 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



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

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°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°C进行。

有效期: 12 个月有效。