

Triton-SDS 细胞裂解液

产品货号: T15197

产品规格: 100ml

产品简介:

Triton-SDS细胞裂解液由Triton X-100、SDS、Tris-HCl等组成,并含有蛋白酶抑制剂成分,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TritonX-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。所获得的蛋白质可以用于PAGE电泳,Western,免疫沉淀 (Immunoprecipitation, IP)和免疫共沉淀(co-IP)等。不宜用Bradford法测定由Triton-SDS细胞裂解液获得样本的蛋白浓度。

产品组成:

名称	规格	保存条件
Triton-SDS 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-SDS Lysis Buffer置于室温溶解混匀,加入PMSF,使PMSF终浓度为1mM。
2. 去除培养液,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-SDS 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. 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-SDS Lysis Buffer置于室温溶解混匀后加入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Triton-SDS 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. 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-SDS Lysis Buffer置于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。
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-SDS



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

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-SDS Lysis Buffer时, 应尽量缩短溶解时间, 避免裂解液中的有效成分失效。
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。
7. 细胞裂解的操作步骤, 应置于冰上或4℃进行。

有效期: 12个月有效。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com