**Triton-SDS细胞裂解液**

**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。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。不宜用Bradford法测定由Triton-SDS细胞裂解液获得样本的蛋白浓度。

**组成：**

| 产品名称 | PC009-100ml | PC009-500ml | Storage |
| --- | --- | --- | --- |
| Triton-SDS Lysis Buffer | 100ml | 500ml | -20℃ |
| 说明书 | 一份 |

**保存条件：**

-20℃保存，一年有效

**操作步骤(仅供参考)：**

**一)贴壁培养细胞**

1、取Triton-SDS Lysis Buffer置于室温溶解混匀使PMSF终浓度为1mM。

2、去除培养液，低速离心，弃上清。

3、按照6孔板每孔加入150～250μl含有PMSF的裂解液的比例加入riton-SDS Lysis。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1～3s内，细胞就会被裂解。

4、离心(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150～250μl含有PMSF的裂Triton-SDS Lysis Buffer。

4、离心(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。

5、离心(如无低温离心机，室温下离心亦可)，取上清。

6、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。
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。
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。
7. 细胞裂解的操作步骤，应置于冰上或4℃进行。

8、本产品仅供科研使用，严禁它用。