天净沙系列

CAT#:221235

低温运输，-20℃保存

TRAP 专用细胞裂解液

Lysis Buffer for TRAP

使用手册 V1.01

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

TRAP 专用细胞裂解液通常用于端粒酶重复片段扩增（TRAP）实验中，以提取细胞中的端粒酶。其作用是裂解细胞，释放出细胞内的端粒酶，以便后续进行端粒酶活性的检测。本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品采用带 logo 热封袋包装

成分	编号	规格	包装
TRAP 专用细胞裂解液	221235	10 mL	10 mL 本色瓶
使用手册	221235sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，-20℃保存，有效期一年。

自备试剂

BCA 蛋白浓度测定试剂盒，PBS。

使用方法

注意：端粒酶的组成成分中有 RNA，极容易被降解，因此，提取端粒酶应该跟提取 RNA 一样，尽量在低温条件下快速操作、最好使用本公司的固相 RNase 清除剂预先清洁试验台面等容易有 RNase 污染的地方。

1. 对冷冻的实体组织：将 50-100 mg 在-80℃冷冻的组织放装有液氮的研钵中研磨成粉末，再转移到预冷的玻璃匀浆器中，加入 200 μL 预冷的 TRAP 专用细胞裂解液，温和手动匀浆 6 次后冰浴 30 分钟，每间隔 5 分钟涡旋振荡一次，然后直接进入第 3 步操作。

   注意：为保证裂解效果，可在显微镜下观察确保大部分细胞已经裂解。如果组织样品不足 50-100 mg，可以按比例降低 TRAP 专用细胞裂解液用量。在-20℃保存的实体组织放置 2 个月后就失去端粒酶活性，而在-80℃保存的实体组织放置数年还有端粒酶活性。

2. 对新鲜的培养细胞和组织：用自备的预冷 PBS 洗涤 1E6 个经过胰酶处理的细胞或 50-100 mg 经过胰酶处理的新鲜组织，3000×g 4℃离心 5 分钟，弃上清，细胞沉淀可以直接使用，也可以放-80℃保存后续使用。在细胞或组织沉淀中加入 200 μL 预冷的 TRAP 专用细胞裂解液，轻柔吹打 3 次悬浮细胞或组织。对新鲜细胞：涡旋振荡 10 秒后置冰浴 30 分钟，每间隔 5 分钟涡旋振荡一次。对新鲜组织：在冰上用玻璃匀浆器轻柔匀浆后冰浴 30 分钟，每间隔 5 分钟涡旋振荡一次。如果细胞不足 1E6 或 50-100 mg，按比例降低 TRAP 专用细胞裂解液用量。

3. 14000×g 4℃离心 20 分钟，收集 160 μL 上清，留 40 μL 不取。

	4. 取部分上清液用自备 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定总蛋白浓度。 5. 测出各样品的蛋白浓度后，用 TRAP 专用细胞裂解液将各样品的蛋白浓度调成 3 μg/μL，然后分装合适的量到离心管中，将实验所需的数量放冰上待用，其余的放-80℃长期保存（可存放一年）。此步所得样本称为端粒酶待测样本。 6. 对每个样本，一次实验需要两管，一管用于测定端粒酶活性，一管用作该待测样本的热灭活阴性对照。制备方式是每个样本取一管端粒酶待测样本，95℃处理 10 分钟灭活端粒酶，放冰上待用。没有用完的可放-80℃长期保存（可存放一年）供下次使用。 7. 按常规操作进行后续的端粒酶检测实验。
关联产品	人端粒酶活性检测试剂盒（TRAP PCR 探针法）