

Triton X-100 细胞裂解液

简介:

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 PAGE 电泳, Western, 免疫沉淀(Immunoprecipitation, 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, 为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。不宜用 Bradford 法测定由 Triton X-100 Lysis Buffer 获得样本的蛋白浓度。

组成:

产品名称	PC008-100ml	PC008-500ml	Storage
Triton X-100 细胞裂解液	100ml	500ml	-20°C
说明书	一份		

保存条件:

-20°C保存, 一年有效

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, 使 PMSF 终浓度为 1mM。
- 2、去培养液, 低速离心, 弃上清。
- 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 1 ~ 3s 内, 细胞就会被裂解。(如无低温离心机, 室温下离心亦可), 取上清。
- 4、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 的裂解液比例, 加入 Triton X-100 Lysis Buffer。
- 4、4°C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 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 $^{\circ}$ C 裂解。
- 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 1~2min 之内，以减少蛋白的降解。
- 6、离心(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。
- 5、裂解产物中经常会出现一小团透明胶状物，属正常现象。
- 6、细胞裂解的操作步骤，应置于冰上或 4 $^{\circ}$ C 进行。
- 7、本产品仅供科研使用，严禁它用。

