

## TritonX-100 裂解液

2020.04.15R

### 产品简介:

TritonX-100 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 (IP) 和免疫共沉淀 (co-IP) 等。产品组分有 TritonX-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。原理是利用去污剂 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。用 TritonX-100 裂解液裂解得到的蛋白样品, 可以用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度。由于含有较高浓度的去垢剂, 不能用 Bradford 法测定由 TritonX-100 裂解液获得样品的蛋白浓度。

### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
PMK0534	Triton X-100 裂解液	100ml/500ml
—	说明书	1 份

### 保存条件:

-20℃ 保存, 一年有效。

### 操作步骤:

#### (一) 贴壁培养细胞

- 1、取 TritonX-100 裂解液置室温融解混匀, 加入 PMSF, 使 PMSF 终浓度为 1mM。
- 2、去除贴壁细胞的培养液, 用 PBS、生理盐水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  $\mu$ l 含有 PMSF 的 TritonX-100 裂解液, 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。如果细胞密度非常高可以适当加大裂解液的用量到 200~250  $\mu$ 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、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 TritonX-100 裂解液置于室温融解混匀后, 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。

## 产品说明书

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  $\mu$ l 含有 PMSF 的 TritonX-100 裂解液。如果细胞密度非常高可以适当加大裂解液的用量到 200~250  $\mu$ l。再用手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℃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 TritonX-100 裂解液置于室温融解混匀后，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  $\mu$ 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 亦可采用如下过程：按照每 20mg 组织加入 150~250  $\mu$ l 裂解液的比例加入含有 PMSF 的 TritonX-100 裂解液。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 SDS-PAGE、Western、免疫沉淀和免疫共沉淀等操作。

### 注意事项：

1. 为取得最佳的使用效果，尽量避免过多的反复冻融。建议将其适当分装成合适的量，然后置于-20℃中保存。

2. 细胞裂解抽提蛋白的所有步骤都需在冰上或 4℃进行。

3. 建议在临用前数分钟内加入 PMSF，使 PMSF 的最终浓度为 1mM。PMSF 可以向我们公司订购。

4. 在贴壁培养细胞的操作步骤中，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。

5. 如果裂解不充分可以适当添加更多的裂解液，如果需要高浓度的蛋白样品，可以适当减少裂解液的用量。

6. 在培养细胞的裂解液中，如果细胞量较多，必须分装成 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，相对容易裂解充分。

7. 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，不必使用匀浆器或研磨设备，缺点是不如匀浆器或研磨那样裂解得比较充分。

8. 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。

## 产品说明书

9. 本产品对人体有毒，操作时请特别小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
10. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
11. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套和手套操作。

**更多产品详情了解，请关注公众号：**

