

Triton X-100 细胞裂解液使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
ES-8146	Triton X-100 Cell Lysis Buffer	100ml
	使用说明书	1 份

【保存条件】

4°C保存，有效期 1 年。

【概述】

Triton X-100 细胞裂解液是一种经典的细胞组织裂解液。Triton X-100 细胞裂解液裂解得到的蛋白样品可以用于常规的 PAGE、Western、免疫沉淀(immunol precipitation, IP)、免疫共沉淀(co-IP)和 ELISA 等。不宜用 Bradford 法测定 Triton X-100 细胞裂解液所获得的样品蛋白浓度。

【使用建议】

1. 对于培养细胞样品:

a.取适当量的裂解液，在使用前数分钟内加入 PMSF，使 PMSF 的最终浓度为 1mM，或者根据实验需要加入适当的蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物。

b.对于贴壁细胞：去除培养液，用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗一遍(如果血清中的蛋白没有干扰，可以不洗)。按照 6 孔板每孔加入 150-250μl 裂解液的比例加入裂解液。用枪吹打数下，使裂解液和细胞充分接触。通常裂解液接触动物细胞 1-3 秒后，细胞就会被裂解。

对于悬浮细胞：离心收集细胞，轻轻涡旋或者弹击管底以把细胞尽量分散开。按照 6 孔板每孔细胞加入 150-250μl 裂解液的比例加入裂解液。再用手指轻弹以充分裂解细胞。如果细胞量较多，必需分装成 50-100 万细胞/管，然后再裂解。充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。

裂解液用量说明：通常 6 孔板每孔细胞加入 150μl 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 200μl 或 250μl。每 100 万动物细胞用 100μl 本产品裂解后获得的上清，其蛋白浓度约为 2-4mg/ml，不同细胞有所不同。

c.充分裂解后，10000-14000g 离心 3-5 分钟（建议 4°C 低温离心，室温离心亦可），取上清，即可进行后续的 PAGE、Western 和 ChIP 等操作。

2.对于组织样品:

a.把组织剪切成细小的碎片。

b.融解裂解液，混匀。取适当量的裂解液，在使用前数分钟内加入 PMSF，使 PMSF 的最终

浓度为 1mM，或者根据实验需要加入适当的蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物。

c.按照每 20mg 组织加入 150-250 μ l 裂解液的比例加入裂解液。(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。)

d.用玻璃匀浆器匀浆，或使用组织研磨仪研磨，直至充分裂解（使用玻璃匀浆器或组织研磨仪应尽量将时间控制至 2 分钟内，减少蛋白质降解）。也可以把组织样品冷冻后液氮研磨，研磨充分后加入裂解液进行裂解。

e.充分裂解后，10000-14000g 离心 3-5 分钟，取上清，即可进行后续的 PAGE、Western 和 ChIP 等操作。每 20mg 冻存的小鼠肝脏组织用 200 μ l 本裂解液裂解后获得的上清，其蛋白浓度约为 15-25mg/ml，不同状态的不同组织有所不同。

f.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，通过强烈涡旋使样品裂解充分。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，缺点是不如匀浆或研磨那样裂解得比较充分。

2. 【注意事项】

1. 为了您的安全与健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
2. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4 $^{\circ}$ C 进行。
3. 该试剂仅用于科研领域，不宜用于临床诊断或其他用途。