



Mild Cell Lysis

Nr kat.	j.m.
E0292-01	50 ml
E0292-02	200 ml

Przechowywanie i transport: 4°C.

Termin ważności: 12 miesięcy

Zawartość: 50 mM Tris-HCl pH 7.6, 250 mM NaCl, 1 % detergent, 5 mM EDTA, 0.02 % NaN₃

Ważne informacje dotyczące produktu:

Mild Cell Lysis nie zawiera inhibitorów proteaz (1 mM PMSF lub ang. Protease Inhibitor Cocktail), które należy dodać bezpośrednio przed ekstrakcją białek.

Do ekstrakcji białek jądrowych i mitochondrialnych zalecany jest roztwór RIPA (E0295).

Mild Cell Lysis to łagodny roztwór do lizy komórek w hodowlach komórkowych i homogenatów tkanek, bazujący na niejonowym detergencie. Roztwór lizujący przeznaczony jest do ekstrakcji białek cytoplazmatycznych i związanych z błoną komórkową. Białka mogą być następnie wykorzystane do analiz PAGE, Western blotting, IP, ELISA.

Protokół lizy adhezyjnych komórek ssaczy:

- Ostrożnie zlać pożywkę z nad komórek przylegających do podłoża.
- Przemyc komórki dwukrotnie schłodzonym buforem PBS.
- Dodać schłodzony Mild Cell Lysis do komórek (1 mL buforu na 10⁸ komórek - ilość dodawanego buforu może wymagać optymalizacji w zależności od typu komórek i poziomu syntezy badanego białka). Inkubować na lodzie przez 15 min, poruszając co kilka minut naczyniem hodowlanym aż do uzyskania klarownego lizatu.
- Przenieść lizat do probówki i wirować 15 min z prędkością ~14,000 × g.
- Przenieść supernatant do nowej probówki do dalszych analiz lub przechowywać w -80 °C.

Protokół lizy komórek ssaczy hodowanych w zawieszynie:

- Osadzić komórki poprzez wirowanie 5 min z prędkością 2500 x g. Ostrożnie usunąć supernatant.
- Przemyc komórki dwukrotnie schłodzonym buforem PBS. Osadzić komórki wirując przez 5 min z prędkością 2500 x g. Ostrożnie usunąć supernatant.
- Dodać schłodzony Mild Cell Lysis do komórek (1 mL buforu na 10⁸ komórek - ilość dodawanego buforu może wymagać optymalizacji w zależności od typu komórek i poziomu syntezy badanego białka) i rozpipetować.
- Delikatnie wytrząsać próbkę przez 15 min na lodzie, do uzyskania klarownego lizatu.
- Wirować 15 min z prędkością ~14,000 × g.
- Przenieść supernatant do nowej probówki do dalszych analiz lub przechowywać w -80 °C.

Protokół lizy tkanek zwierzęcych:

- Przemyc świeżą tkankę schłodzonym buforem PBS kilka razy (co najmniej 2 razy). Rozdrobnić tkankę.
- Dodać schłodzony Mild Cell Lysis do próbki (1 mL buforu na 1 g tkanki).
- Homogenizować do uzyskania jednorodnej zawiesziny (jeśli liza jest niecałkowita dodać więcej Mild Cell Lysis). Inkubować na lodzie przez 3 min.
- Wirować 10 min z prędkością ~10 000 × g.
- Przenieść supernatant do nowej probówki do dalszych analiz lub przechowywać w -80 °C.

Produkt został opracowany, zaprojektowany i jest sprzedawany wyłącznie do celów badawczych i wyłącznie do użytku in vitro.