Mild Cell Lysis PLUS

Nr kat.	j.m.
E0293-01	50 ml
E0293-02	200 ml

Przechowywanie i transport: 4°C.
Termin ważności: 12 miesięcy

Zawartość: 50 mM Tris-HCl pH 7.6, 250 mM NaCl, 1 % detergent, 20 mM NaF, 5 mM EDTA, 2 mM Na_3VO_4, 0.02 % NaN_3

Ważne informacje dotyczące produktu:

Mild Cell Lysis PLUS 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 PLUS to roztwór przeznaczony do lizy komórek w hodowlach komórkowych i homogenatów tkanek, bazujący na niejonowym detergencie, przeznaczony jest do ekstrakcji białek cytoplazmatycznych i związanych z błoną komórkową.

Roztwór zawiera inhibitory fosfataz NaF i Na3VO4 i może być używany do badań białek fosforylowanych.

Protokół lizy adhezyjnych komórek ssaczych:

- Ostrożnie zlać pożywkę znad komórek przylegających do podłoża.
- Przemyć komórki dwukrotnie schłodzonym buforem PBS.
- Dodać schłodzony Mild Cell Lysis PLUS do komórek (1 mL buforu na 10^8 komórek - ilość dodawanego buforu może wymagać optymalizacji w zależności od typu komórek, biosyntezy badanego białka i poziomu fosforylacji). Inkubować na lodzie przez 30 min, mieszając lekko naczyniem hodowlanym.
- 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 ssaczych hodowanych w zawiesinie:

- Osadzić komórki poprzez wirowanie 5 min z prędkością 2500 x g. Ostrożnie usunąć supernatant.
- Przemyć komórki dwukrotnie schłodzonym buforem PBS. Osadzić komórki wirując przez 5 min z prędkością 2500 x g. Ostrożnie usunąć supernatant.
- Dodać schłodzony Mild Cell Lysis PLUS do komórek (1 mL buforu na 10^8 komórek - ilość dodawanego buforu może wymagać optymalizacji w zależności od typu komórek, biosyntezy badanego białka i poziomu fosforylacji) i rozpipetować.
- Delikatnie wytrząsać próbkę przez 15 min na lodzie.
- 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:

- Przemyć świeżą tkankę schłodzonym buforem PBS kilka razy (co najmniej 2 razy). Rozdrobnić tkankę na mniejsze kawałki.
- Dodać schłodzony Mild Cell Lysis PLUS do próbki (1 mL buforu na 1 g tkanki).
- Homogenizować do uzyskania jednorodnej zawiesiny (jeśli liza jest niecałkowita dodać więcej Mild Cell Lysis PLUS). 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.

EURx Sp. z o.o. 80-297 Gdańsk, ul. Przyrodników 3, NIP 957-07-05-191, KRS 0000202039
www.eurx.com.pl, sales@eurx.com.pl, *tel.* +48 58 524 06 97, *fax* +48 58 341 74 23