



## Basic Cell Lysis

Nr kat.	j.m.
E0294-01	50 ml
E0294-02	200 ml

**Przechowywanie i transport:** 4°C.

**Termin ważności:** 12 miesięcy

**Zawartość:** 10 mM Tris-HCl pH 7.4, 100 mM NaCl, 20 mM Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, 10 % glicerol, 1 % detergent, 2 mM NaF, 2 mM Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 0.1 % SDS, 0.5 % deoksycholan

### Ważne informacje dotyczące produktu:

Basic 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).

Basic Cell Lysis to roztwór przeznaczony do lizy komórek w hodowlach komórkowych i homogenatów tkanek. Działanie Basic Cell Lysis jest silniejsze od Mild Cell Lysis, ale łagodniejsze od RIPA. Basic Cell Lysis przeznaczony jest do ekstrakcji białek cytoplazmatycznych, związanych z błoną komórkową i jądrowych.

Roztwór zawiera inhibitory fosfataz NaF i Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub> i może być używany do badań białek fosforylowanych.

### Protokół lizy adhezyjnych komórek ssaczy:

- Ostrożnie zlać pożywkę z nad komórek przylegających do podłoża.
- Przemyc komórki dwukrotnie schłodzonym buforem PBS.
- Dodać schłodzony Basic Cell Lysis do komórek (1 mL buforu na 10<sup>8</sup> 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 zawiesinie:

- Osadzić komórki poprzez wirowanie 5 min z prędkością 2500 × g. Ostrożnie usunąć supernatant.
- Przemyc komórki dwukrotnie schłodzonym buforem PBS. Osadzić komórki wirując przez 5 min z prędkością 2500 × g. Ostrożnie usunąć supernatant.
- Dodać schłodzony Basic Cell Lysis do komórek (1 mL buforu na 10<sup>8</sup> 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 na mniejsze kawałki.
- Dodać schłodzony Basic Cell Lysis do próbki (1 mL buforu na 1 g tkanki).
- Homogenizować do uzyskania jednorodnej zawiesiny (jeśli liza jest niecałkowita dodać więcej Basic 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.