

Product Information

CellLytic™ M

哺乳類細胞溶解/抽出用試薬

製品番号 C2978

室温で保存してください。

TECHNICAL BULLETIN(使用説明書)

製品概要

細胞タンパク質を抽出するには効率よく細胞を溶解してタンパク質を可溶化する必要がありますが、一方、タンパク質の分解や試薬によるタンパク質の免疫反応性や生物学的活性への干渉は避けなければなりません。

CellLytic™ M 哺乳類細胞溶解/抽出用試薬は、懸濁細胞と接着細胞の両方について高効率かつ迅速な細胞溶解とタンパク質の可溶化を実現します。接着細胞を培養皿からかき集める必要はありません。

CellLytic M で抽出したタンパク質は、レポーター遺伝子アッセイ(β -gal、アルカリホスファターゼ、CAT)、イムノアッセイ(ウェスタンブロット、ELISA、免疫沈降)、キナーゼアッセイ(PKC、チロシンキナーゼ)、ホスファターゼアッセイ(一般的なホスファターゼ、チロシンホスファターゼ)などに使用できます。本製品のバッファーは泳動ゲルの Coomassie® Blue 染色や銀染色に適合しています。タンパク質を含むライセートは DNA-タンパク質間相互作用アッセイ(ゲルシフトアッセイ)にも使用できます。

CellLytic M 細胞溶解/抽出用試薬には弱い界面活性剤が低濃度で配合されているため、タンパク質の相互作用や生物学的活性への干渉が最小限に抑えられています。この界面活性剤は生物学的活性の評価に適したビシンバッファーに溶解されており、必要に応じて透析で除去できます。

CellLytic M 試薬のタンパク質抽出効率は HeLa、CHO、COS、HL-60、Jurkat、A431、PC-12、ウシ大動脈内皮細胞(BAEC)といった細胞でテストされていますが、これら以外の細胞にも利用できます。

用途によっては、細胞溶解プロセスを 4 °C で実施したり、特定の成分を加えたりすることが好結果をもたらすかもしれません。添加できる成分としては、プロテアーゼまたはホスファターゼに対するインヒビターカクテル、還元剤、キレート剤、塩類などがあります(塩類はイムノアッセイの結果を改善したり核タンパク質の抽出効率を高めたりすることがあります)。

試薬

CellLytic M 哺乳類細胞溶解/抽出用試薬は Ready-to-use 溶液です。1 本で培養プレート(直径 100 mm)およそ 250 枚分の細胞の抽出ができます。

本製品以外にご用意いただく試薬および器具

(製品番号を適宜付記しております)

- プロテアーゼインヒビターカクテル(哺乳類細胞・組織抽出物用)、製品番号 P8340
- 試験管
- シューカー
- マイクロ遠心機(Eppendorf{237}® {238}5417R 型機、製品番号 Z366013 または Z366021)または同等品
- Dulbecco リン酸緩衝食塩水(DPBS)、製品番号 D8537

注意事項と免責事項

弊社の製品は試験研究用のみを目的として販売されています。医薬品、家庭用その他試験研究以外の用途には使用できません。危険性や安全な取り扱いに関しては化学物質安全データシート(MSDS)をご覧ください。

保存

室温で保存してください。長期保存すると製品に濁りが生じる場合があります。性能への悪影響はありませんので、濾過や清澄化をせずともそのままお使いいただけます。

手順

細胞に加える CellLytic M 細胞溶解/抽出用試薬の量は、細胞の量および必要なタンパク質濃度によって異なります。一般的には、 $10^6 \sim 10^7$ 個の細胞に対して 125 μ L の CellLytic M を加えるようお勧めします。接着細胞の場合、培養プレートの大きさによってプレート表面を覆う試薬の必要量が決まります。直径 100 mm のプレートなら 1 枚あたり 500~1000 μ L、35 mm のプレートなら 200~400 μ L を使用します。

CellLytic M 試薬にはプロテアーゼインヒビターカクテルを加えることができます。

1. 細胞を洗浄して CellLytic M で処理します。
 - a. 接着細胞の場合:
アッセイ対象の細胞から培地を除去します。細胞が剥がれないよう注意しながら DPBS で細胞を 1 回洗い、DPBS を捨てます。適切な量の CellLytic M 試薬を加えます。
 - b. 懸濁細胞の場合:
適切な遠心チューブに細胞を回収します。450 × g で 5 分間遠心分離します。デカントして上清を捨てます。細胞を DPBS で洗浄し、450 × g で 5 分間遠心分離します。デカントして上清を捨てます。推奨量の CellLytic M 試薬に細胞ペレットを再懸濁します。
2. シェーカーで 15 分間振盪します。
3. 溶解した細胞を回収します。
 - a. 接着細胞の場合: 細胞をプレートから遠心チューブに移します(細胞をかき集めると総タンパク質の収率が向上することがあります)。
 - b. 懸濁細胞の場合: ステップ 4 に進みます。
4. 溶解した細胞を 12,000~20,000 × g で 15 分間遠心分離し、細胞破片を沈殿させます。
5. タンパク質を含む上清を冷却した試験管に移します。
注: ライセートの保存は低温で行う必要があります。そのため、ライセートを長期保存する際は -70 °C 保存をお勧めします。

関連製品

- CellLytic B (細菌細胞溶解/抽出用試薬)、製品番号 B7435
- CellLytic B 2X (細菌細胞溶解/抽出用試薬)、製品番号 B7310
- CellLytic B 10X (細菌細胞溶解/抽出用試薬)、製品番号 C8740
- CellLytic MT (哺乳類組織溶解/抽出用試薬)、製品番号 C3228
- Mammalian Cell Lysis Kit (哺乳類細胞溶解キット)、製品番号 MCL1
- CellLytic NuCLEAR™ タンパク質抽出キット、製品番号 NXTRACT

CellLytic および NuCLEAR は Sigma-Aldrich™ Biotechnology LP および Sigma-Aldrich Co. の商標です。Coomassie は Imperial Chemical Industries, LTD. の登録商標です。Eppendorf は Eppendorf-Netheler-Hinz GmbH の登録商標です。

BD, CMH, MAM 06/07-1

Sigma ブランド製品はシグマ アルドリッチを通じて販売されています。

シグマ アルドリッチは同社製品がこの文書およびその他のシグマ アルドリッチ発行文書に含まれる情報に合致していることを保証します。お客様の個別の用途と製品の適合性についてはお客様にてご判断ください。掲載の品目、製品情報、価格などは予告なく変更される場合がございます。納品伝票または同梱の内容明細書の裏面をご覧ください。