

Anti - PHOSPHO-Erk 1,2

Králičia klonálna protilátka

KAT. ČÍSLO

DB 013-0.05 (50 µl)
DB 013-0.1 (100 µl)

INFORMÁCIE O PRODUKTE

Klon: G15-B
Uniprot číslo: Human: P27361/P28482; Mouse: Q63844/P63085; Rat: P21708/P63086
Popis produktu: Králičie anti-fosforylované-Erk 1,2 klonálne IgG
Informácie o produkte: Klon IgG reprezentujúci Erk1 a Erk2, získaný z imonoglobulínov odpovedajúcich fosforylovaných sekvencií pT-E-pY
Imunogén: Peptid komplementárny s oblasťou obsahujúcou konzervatívny pT-E-pY motív aktivovaných Erk 1,2
Špecifita: Ľudský antigén, myšiaci antigén, potkaní antigén

Pufor: 20 mM Tris-HCl, pH 8.0
Stabilizátor: 10 mg/ml BSA
Konzervačná látka: 0.05% NaN₃

Skladovanie: 10 µl produktu pri -20 °C
Manipulácia: Vyhnite sa opakovanému zmrazovaniu a rozmrazovaniu
Expirácia: 24 mesiacov odo dňa odoslania

Aplikácia: Western blot, Imunoprecipitácia, ELISA, Imunocytochémia (ICC)

Riedenie: Western blotting – 1:5 000;
ELISA – 1:20 000-1:100 000;
Imunoprecipitácia – podľa testovania zákazníka

WESTERN BLOT (WB) PROTOKOL - NÁVOD NA POUŽITIE

Roztoky pre Western blotting:

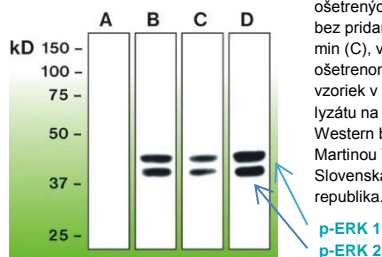
- Premývací pufor: 1x Tris Bufferd Saline (TBS); 0,1% Triton X-100
- Blokovací pufor: 1x TBS; 0,1% Triton X-100; 5% BSA (používané s primárnou protilátkou)

Pre Western blot: inkubácia membrány 2 hodiny pri izbovej teplote s protilátkou rozpustenou v blokovacom pufrí.

Anti - phospho-Erk 1,2 (DB 013)

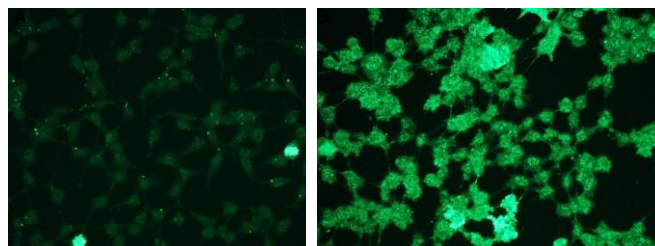
Western blot analýza aktivity Erk 1,2 u nestimulovaných PC12 buniek (A), u buniek ošetrených so 100 ng/ml EGF 5 min (B), v sére bez prídania DMEM ošetrenom 100 nM PMA 30 min (C), v sére s prídanim 10% FBS v DMEM ošetrenom 100 ng/ml 5 min (D). Koncentrácia vzoriek v reakcii bola rovnaká, 50 µg bunkového lyzátu na jamku.

Western blot bol prevedený a poskytnutý RNDr. Martinou Takáčovou PhD., Virologický ústav, Slovenská akadémia vied, Bratislava, Slovenská republika.



PROTOKOL PRE IMUNOCYTOCHÉMIU (ICC) - NÁVOD NA POUŽITIE

- Naneste na sklíčko roztok 1% želatíny a nechajte pôsobiť po dobu 2 hodín pri izbovej teplote. Dobre opláchnite destilovanou vodou, a nechajte zaschnúť cez noc pri izbovej teplote (alebo použite sklíčka už potiahnuté želatínou). Pred aplikovaním buniek sklíčko opláchnite roztokom PBS (pH 7.2).
- Bunky fixujte 4% roztokom paraformaldehydu (v PBS, pH 7.2) po dobu 15 min pri izbovej teplote.
- Opláchnite sklíčko PBS pufrom (pH 7.2) 2 x 3 min.
- Permeabilizujte bunky roztokom 0.1% Triton X-100 (v PBS, pH 7.2) po dobu 5 min. na ľade.
- Opláchnite sklíčko PBS pufrom (pH 7.2) 2 x 3 min.
- Inkubujte bunky v blokovacom pufrí (0.3M glycine v PBS pH 7.2; 2% BSA) po dobu 30 min. pri izbovej teplote.
- Inkubujte bunky s primárnou protilátkou: **Anti-phospho Erk 1,2** riedenou **1:100 - 1:400** v nariadenovacom pufrí (PBS pH 7.2; 1% BSA) po dobu 1 hodiny, pri izbovej teplote, vo vlhkej komôrke.
- Opláchnite sklíčko PBS pufrom (pH 7.2) 2 x 3 min.
- Aplikujte sekundárnu protilátku (v tomto prípade bola použitá "Goat anti-rabbit IgG-FITC" od Jackson Immunoresearch, cat. # 111-095-003, nariadená 1:300 v nariadenovacom pufrí (PBS pH 7.2, 1% BSA), a inkubovaná po dobu 1 hodiny pri izbovej teplote v tme).
- Opláchnite sklíčko PBS pufrom (pH 7.2) 3 x 3 min.
- Rýchlo opláchnite destilovanou vodou.
- Pre pozorovanie aplikujte 1 kvapku vhodného montovacieho média (v tomto prípade použité "Fluoroshield™ od Sigma; cat. # F6182).



Reprezentatívne obrázky expresie phospho-Erk 1,2 v bunkách HEK293, (**obrázok A** – intaktné bunky, **obrázok B** – bunky po expozícii peroxidom vodíka) vizualizovanej králičou klonálnou monošpecifickou protilátkou Anti-phospho-Erk1,2. Riedenie primárnej protilátky - 1:100.

UPOZORNENIA

- Reagencia je určená pre profesionálnu In vitro diagnostiku v laboratóriách.
- Nepoužívajte reagentiu po uplynutí doby použiteľnosti.
- Chráňte obsah fľaštičky pred kontamináciou.
- Akákoľvek odchýlka od odporúčaných postupov uvedených v pracovnom protokole môže mať vplyv na konečné výsledky.
- Reagencia obsahuje azid sodný (NaN₃), ktorý je toxický pri **vyšších koncentráciách**, avšak koncentrácia prítomná v tejto reagentii (0,05%) nie je považovaná za nebezpečnú.
- Likvidácia odpadového materiálu sa musí vykonať podľa platných miestnych predpisov.
- Používajte pri práci ochranné prostriedky a vyvarujte sa kontaktu s očami a pokožkou.