

Anti - Akt1 (pSer-473)*

Kráľičia klonálna protilátka

KAT. ČÍSLO

DB 127-0.05 (50 µl)
DB 127-0.1 (100 µl)

INFORMÁCIE O PRODUKTE

Klon: X20-A
Uniprot číslo: Human: P31749; Mouse: P31750; Rat: P47196
Popis produktu: Kráľičie anti-Akt1, pSer-473 špecifické klonálne IgG (rozoznávajúce fosforylovanú formu Akt1 v reziduu pSer-473, Akt2 v reziduu pSer-474, a Akt3 v reziduu pSer-472)

Informácie o produkte: Klon IgG získaný z kráľičieho antiséra in vitro technológiou, detekujúci Akt1 proteín fosforylovaný na pozícii pSer-473

Imunogén: Peptid obklopujúci pSer-473 na C-koncovej sekvencii ľudského AKT1 proteínu

Špecificita: 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)

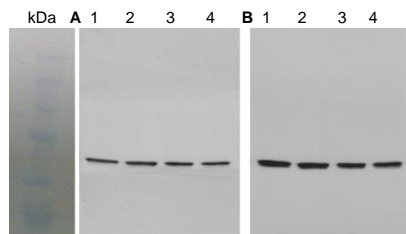
Riedenie: Western blotting – 1:5 000;
ELISA – 1:100 000 – 1:200 000

WESTERN BLOT (WB) PROTOKOL - NÁVOD NA POUŽITIE

Roztoky pre Western blotting:

- Premývacie pufor: 1x Tris Bufferd Saline (TBS); 0,1% Triton X-100
- Blokovací pufor: 1x TBS; 0,1% Triton X-100; 2% BSA

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



Anti - Akt1, pSer-473 (DB 127)

(A) Western blot analýza aktivácie proteínu Akt v striatálnych neurónoch stimulovaných DHPG (mGluR5 agonist) po dobu 0 minút (dráha 1), 2 minúty (dráha 2), 5 minút (dráha 3) alebo 10 minút (dráha 4).

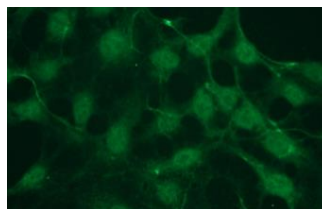
(B) Western blot analýza celkového Akt proteínu (detekovaného pomocou protilátky DB 126 Anti-Akt1) v striatálnych neurónoch stimulovaných DHPG (mGluR5 agonist) po dobu 0 minút (dráha 1), 2 minúty (dráha 2), 5 minút (dráha 3) alebo 10 minút (dráha 4) minút.

Vzorky boli nanosené v rovnakej koncentrácii 100 µg/jamka. Western blot bol prevedený Dr. Fabiolou M. Ribeiro, Departamento de Bioquímica e Imunologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) Belo Horizonte, Brasil.

PROTOKOL PRE IMUNOCYTOCHÉMIU (ICC) - NÁVOD NA POUŽITIE

*protilátka rozpoznáva pSer-473 Akt1, pSer-474 Akt2, a pSer-472 of Akt3

1. 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).
2. Bunky fixujte 4% roztokom paraformaldehydu (v PBS, pH 7.2) po dobu 15 min pri izbovej teplote.
3. Opláchnite sklíčko PBS pufrom (pH 7.2) 2 x 3 min.
4. Permeabilizujte bunky roztokom 0.1% Triton X-100 (v PBS, pH 7.2) po dobu 5 min. na fide.
5. Opláchnite sklíčko PBS pufrom (pH 7.2) 2 x 3 min.
6. Inkubujte bunky v blokovačom pufrí (0.3M glycine v PBS pH 7.2; 2% BSA) po dobu 30 min. pri izbovej teplote.
7. Inkubujte bunky s primárnou protilátkou: **Anti-Akt (pSer 473)*** nariadenou **1:300 - 1:500** v nariadenovacom pufrí (PBS pH 7.2; 1% BSA) po dobu 1 hodiny, pri izbovej teplote, vo vlhkej komôrke.
8. Opláchnite sklíčko PBS pufrom (pH 7.2) 2 x 3 min.
9. 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).
10. Opláchnite sklíčko PBS pufrom (pH 7.2) 3 x 3 min.
11. Rýchlo opláchnite destilovanou vodou.
12. Pre pozorovanie aplikujte 1 kvapku vhodného montovacieho média (v tomto prípade použité "Fluoroshield™" od Sigma; cat. # F6182).



Reprezentatívny obrázok Akt1 (s fosforylovaným reziduom pSer-473) v bunkách HEK293, vizualizovaného kráľičiou klonálnou monošpecifickou protilátkou Anti-Akt1, pSer-473. Riedenie primárnej protilátky - 1:300.

UPOZORNENIA

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