



Лизис и экстракция белка

Разрушение клеток или тканей для получения доступа к целевым белкам является первым шагом при очистке белков для функциональных или структурных исследований или для препаративной обработки и производства. Выбор метода экстракции может быть ферментативным, химическим, механическим или их комбинацией.

- **Лизис на основе детергентов**
 - **Лизис замораживанием-оттаиванием**
 - **Осмотический шок**
 - **Ультразвук**
 - **Механические методы**
 - **Ферментативное расщепление**
-
- **Лизис на основе детергента** : Лизис на основе детергента: Лизис с помощью детергента — это щадящий метод, который можно использовать для клеток млекопитающих, бактериальных клеток, дрожжей и растений. Суспензии клеток осторожно центрифугируют и ресуспендируют в лизирующем растворе, содержащем детергенты, разрушающие клеточную мембрану. Мембраны растворяются, лизис клеток и высвобождение их содержимого. Моющие средства, возможно, придется удалить после обработки, если они мешают анализу или производству.
 - **Лизис замораживанием-оттаиванием**. Этот метод применим к суспензиям клеток млекопитающих или бактерий. Клеточную суспензию быстро замораживают с использованием жидкого азота. Затем образец размораживают и ресуспендируют путем пипетирования или осторожного встряхивания в лизирующем буфере, повторяя процесс несколько раз. Между циклами образец центрифугируют, а надосадочную жидкость, содержащую растворимый белок, сохраняют.
 - **Осмотический шок** : это очень щадящий метод, которого может быть достаточно для лизиса взвешенных клеток млекопитающих или бактерий без использования детергента. Этот метод, часто сочетаемый с механическим разрушением, основан на переходе от высокоосмотической среды к низкоосмотической и хорошо подходит для применений, в которых лизат необходимо впоследствии фракционировать на субклеточные компоненты.
 - **Ультразвуковая обработка** : этот метод экстракции белка чаще всего применяется к клеточным суспензиям. Клетки разрушаются высокочастотными звуковыми волнами с помощью зонда, вставленного в образец. Звуковые волны создают область низкого давления, вызывая разрушение клеточных мембран.
 - **Механические методы** . Белки можно экстрагировать из клеток и тканей, используя различные грубые, но эффективные методы «дробления и измельчения». Например, клеточные мембраны могут быть разрушены под действием сил сдвига жидкости с использованием гомогенизации Даунса или Поттера-Эльвехьема. Ткани можно гомогенизировать путем измельчения или измельчения в охлажденном буфере с использованием блендера Waring или гомогенизатора Polytron®. Ткани или клетки можно заморозить в жидком азоте и измельчить до мелкого порошка с помощью ступки и пестика с оксидом алюминия или песком. Быстрое перемешивание клеток мелкими стеклянными шариками разрушает клеточные стенки, что эффективно для большинства грамположительных и грамотрицательных бактерий.
 - **Ферментативное расщепление** : Ферментативные методы часто используются при экстракции белков из бактерий, дрожжей или эукариотических клеток, встроенных в волокнистые ткани, где клеточные мембраны окружены прочной защитной структурой. Ферменты или коктейли для лизиса клеток, такие как лизоцим, мутанолизин, метаполизим, лизопаза и проназа, можно использовать в сочетании с ферментами пищеварения тканей (например, коллагеназой, хондроитиназой, гиалоронидазой) для растворения или разрушения клеточных стенок, оболочек, капсул, капсидов или других структур. его нелегко разрезать только механическими методами. Ферментативное расщепление может сопровождаться гомогенизацией, обработкой ультразвуком или энергичным встряхиванием в лизирующем буфере.

Кроме того, поскольку эндогенные протеазы и фосфатазы могут высвобождаться при разрушении клеток и разрушать молекулу-мишень, образец следует защищать во время разрушения клеток и последующей очистки с использованием [ингибиторов протеаз и фосфатаз](#) , чтобы избежать неконтролируемой потери мишени.



Лизис и экстракция белка

Лизис клеток и солюбилизация белков являются ключом к эффективному анализу и эффективной обработке. Этот шаг имеет решающее значение, поскольку методы обработки, требующие жесткой механической, химической или ферментативной обработки, могут повлиять на целостность и активность целевого белка или иным образом подвергнуть его деградиционным условиям.

Среди многочисленных методов разрушения клеток и подготовки их содержимого для анализа белков, щадящие методы используются, когда образец состоит из легко лизируемых культивируемых клеток или клеток крови, тогда как более энергичные методы используются для разрушения более устойчивых бактериальных или растительных клеток или клеток млекопитающих, встроенных в соединительную ткань.

Корпорация MERCK предоставляет полный ассортимент реагентов и ферментов для лизиса клеток и экстракции белков который дает множество возможностей, позволяющих составить идеальный протокол экстракции для конкретных клеток и белков.

Имея более чем 50-летний опыт разработки технологий подготовки проб белков, MERCK постоянно разрабатывает новые инструменты, чтобы предложить своим клиентам быстрые и эффективные решения, которые можно плавно интегрировать в рабочий процесс.

MERCK предлагает возможность изолирования белков из различных типов образцов с помощью большого ассортимента наборов.

Реагенты MERCK позволяют подготавливать образцы, которые можно использовать непосредственно в таких приложениях, как анализ активности, белковые микрочипы, SDS-PAGE, иммуноблоттинг, ELISA, двумерный гель-электрофорез (2DGE), масс-спектрометрия (МС; включая МС/МС, ЖХ). -MS, MALDI-MS, SELDI-MS и ESI-MS) и другие.

Используя реагенты MERCK для подготовки проб белков, можно легко перейти к высокопроизводительной очистке рекомбинантных белков и проверке растворимости.

- **RIPA-буфер**
- **Реагенты для экстракции белка BugBuster®**
- **Реагенты для лизиса CellLytic™**
- **Реагенты PopCulture®**
- **Усилители: экстракционные ферменты и другие реагенты.**

Руководство по применению реагентов для экстракции белка

Продукты	Исходные материалы			Применение			Комментарии
	Общая культура	Клеточная пеллета	Ткань	1D PAGE	2D PAGE / IEF	Анализ активности	
E. coli							
71456 BugBuster® Master Mix. 100 мл, 500 мл		+		+	+	+	Сочетает в себе реагент для экстракции белка BugBuster®, нуклеазу Benzopase® и раствор rLysozyme™. Удобный универсальный реагент для экстракции белка эффективно расщепляет бактерии и нуклеиновые кислоты.
70584-M BugBuster® Реагент для экстракции белка. 100 мл, 500 мл		+		+	+	+	Эффективная экстракция белка из E. coli в неденатурирующих условиях.
70921 BugBuster®10X Реагент для экстракции белка. 100 мл, 50 мл		+		+	+	+	Концентрированная форма реагента для экстракции белка BugBuster®. Идеально подходит для экстракции, когда для стабильности белка требуется специальный буфер.
71092 PopCulture® Reagent. 15 мл, 75 мл, 250 мл	+			+		+	Экстракция белка в культуральную среду непосредственно из клеток; не требуется центрифугирование.



Продукты	Исходные материалы			Применение			Комментарии
	Общая культура	Клеточная пеллета	Ткань	1D PAGE	2D PAGE / IEF	Анализ активности	
Дрожжи							
71186 YeastBuster™ Реагент для экстракции белка. 100 мл, 500 мл		+		+		+	Эффективная экстракция белка из дрожжей в неденатурирующих условиях из любого объема культуры. Добавьте 0,5 М раствор ТНР (входит в комплект) и бензоназу® нуклеазу для повышения эффективности.
Насекомые							
71009-М CytoBuster™ Реагент для экстракции белка. 50 мл, 250 мл		+		+	+*	+	Мягкий лизис клеток насекомых с сохранением активности белка для анализа и очистки. Можно использовать с монослоями или гранулами, полученными из суспензионных культур.
71187 Insect PopCulture® Reagent. 50 мл, 250 мл	+			+		+	Лизис клеток насекомых непосредственно в бессывороточной среде. Идеально подходит для скрининга экспрессии множества небольших образцов.
Млекопитающие							
71009-М CytoBuster™ Реагент для экстракции белка. 50, 250 мл		+		+	+*	+	Мягкий лизис клеток млекопитающих с сохранением активности белка для анализа и очистки. Можно использовать с монослоями или гранулами, полученными из суспензионных культур.
PNS1010 Stabilyser™ Reagent. 50 мл, 250 мл			+	+	+*	+	Стабилизирует функциональный белок и поддерживает целостность нуклеиновой кислоты. Предотвращает деградацию во время лизиса тканей и хранения.
ProteoExtract® Kits 71772, 539722, QIA88, 539790, 444810, 17-10210		+		+	+*	+	Извлекает белковые фракции из разных частей клетки. Ассортимент комплектов, обеспечивающих максимальную гибкость.
Улучшение лизиса и экстракции							
Грам-положительные бактерии							
71412 Раствор лизоцима белка куриного яйца	+	+		+		+	Расщепляет связи в пептидогликановом слое клеточной стенки бактерий.
Грамотрицательные бактерии (E. coli)							
71110-М rLysozyme™ Solution	+	+		+		+	Расщепляет связи в пептидогликановом слое клеточной стенки E. coli.
Lysonase™ Bio-processing Reagent	+	+		+		+	Удобная смесь раствора rLysozyme™ и бензоназы® нуклеазы сводит к минимуму количество операций по пипетированию.



Продукты	Исходные материалы			Применение			Комментарии
	Общая культура	Клеточная пеллета	Ткань	1D PAGE	2D PAGE / IEF	Анализ активности	
Все клетки							
E1014, E8263, 70664, 71206, 70746, 71205-M Benzonase® Nuclease	+	+		+		+	Разлагает все типы нуклеиновых кислот для более эффективной экстракции белков, ускорения хроматографии и уменьшения помех в анализах.

1D PAGE — одномерный электрофорез в полиакриламидном геле

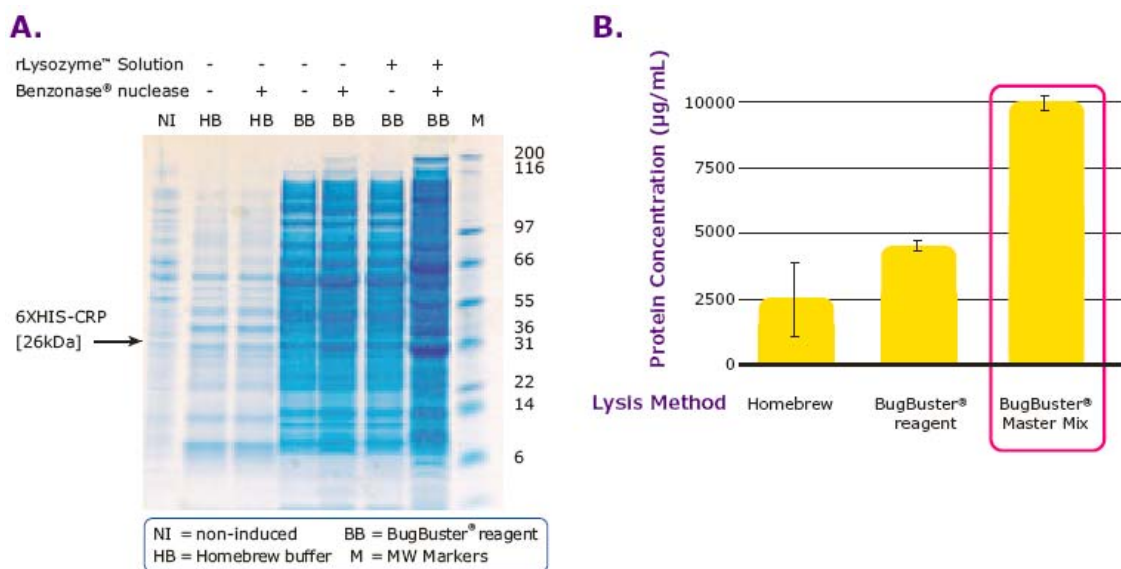
2D PAGE — двумерный электрофорез в полиакриламидном геле

IEF — изоэлектрическая фокусировка

* — Перед IEF соль необходимо удалить.

Наборы и реагенты для экстракции белков BugBuster®

Позволяют выполнить простую экстракцию растворимого белка из *E. coli* без обработки ультразвуком. С помощью наборов и реагентов BugBuster® можно разрушить клеточную стенку *E. coli* и высвободить растворимые белки. Реагент BugBuster® представляет собой простую, быструю и недорогую альтернативу механическим методам, таким как френч-пресс или обработка ультразвуком, для высвобождения экспрессированных целевых белков при подготовке к очистке или другим применениям. В запатентованной формуле используется смесь детергентов, которая проникает в клеточные стенки без денатурации растворимого белка. Просто соберите клетки центрифугированием и суспендируйте в реагенте BugBuster®. После непродолжительной инкубации удалите нерастворимый клеточный мусор центрифугированием. Осветленный экстракт готов к очистке.



Реагент BugBuster® превосходит «доморощенный» лизирующий буфер и реагент BugBuster®, поскольку как нуклеаза Benzonase®, так и раствор rLysozyme™ дают лизаты с самым высоким выходом 6XHis-CRP. (A) Лизаты *E. coli* (5 мкл из 1 мл общего лизата) из различных протоколов лизиса фракционировали и анализировали с помощью SDS-PAGE. Полоса, соответствующая 6XHis-CRP, хорошо видна на полосе BB+/.

(B) Очищенные клеточные лизаты (2 мкл из общего объема 1 мл) наносили на аналитические карты и количественно определяли с помощью спектрометра Direct Detect®. В каждом случае столбцы представляют собой среднее значение трех независимых выборок.



Компоненты реагентов для бактериального лизиса BugBuster®

	BugBuster® Reagent	Буфер	Benzonase® Nuclease	rLysozyme™ Solution	Примечание
BugBuster® Reagent	+	+			
BugBuster® 10X Reagent	+				Гибкость настройки разведения и состава буфера
BugBuster® Plus Benzonase® Nuclease	+	+	+		2 отдельных флакона для большей гибкости
BugBuster® Plus Lysonase™ Kit	+	+	+	+	2 отдельных флакона для большей гибкости
BugBuster® Master Mix	+	+	+	+	1 удобный реагент
PopCulture® Reagent	+	+			Буфер защищает белок от экстремальных значений pH. в питательных средах высокой плотности, что позволяет экстрагировать прямо в среде.

BugBuster® - семейство реагентов для экстракции белков для щадящей, эффективной и немеханической экстракции растворимых белков из клеток бактерий, дрожжей, растений, млекопитающих и насекомых.

Приложение	Описание	Catalog No.
Бактерии	BugBuster®Protein Extraction Reagent	70584
	BugBuster®Master Mix	71456
	BugBuster®Plus Benzonase®Nuclease	70750
	BugBuster®Plus Lysonase™ Kit	71370
	BugBuster®10X Protein Extraction Reagent	70921
	PopCulture®Reagent	71092
Клетки млекопитающих	CytoBuster™ Protein Extraction Reagent	71009
	NucBuster™ Protein Extraction Reagent	71183
	PhosphoSafe™ Extraction Reagent	71296
	Stabiliser™ Reagent	PNS1010
Дрожжи	YeastBuster™ Protein Extraction Reagent	71186
Насекомые	Insect PopCulture®Reagent	71187

РЕАГЕНТЫ ДЛЯ ЭКСТРАКЦИИ БЕЛКА BUGBUSTER®

- **BugBuster®** Реагенты для экстракции белка оптимизированы для экстракции белка из E. coli в неденатурирующих условиях.
- **BugBuster® Master Mix** сочетает в себе реагент для экстракции бактериального белка BugBuster® с нуклеазой Benzonase® и раствором rLysozyme™ для удобной комплексной экстракции белка и расщепления нуклеиновых кислот.
- **CytoBuster™ Reagent** - Позволяет получить экстракты белков из клеток млекопитающих и насекомых в их нативном состоянии за 5 минут.
- **NucBuster™ Reagent** позволяет экстрагировать ядерные белки менее чем за 30 минут по простому двухэтапному протоколу



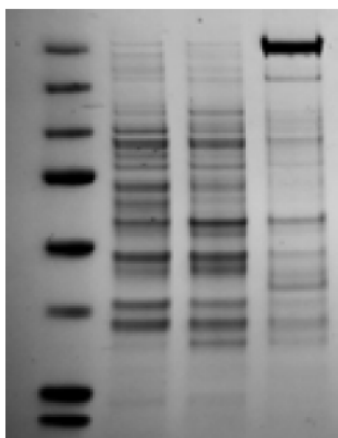
- **PhosphoSafe™ Extraction reagent** - Экстракционный буфер PhosphoSafe™ представляет собой смесь детергента и ингибитора фосфатазы, оптимизированную для быстрой и эффективной экстракции растворимых белков из клеток млекопитающих и насекомых, которая сохраняет состояние фосфорилирования белков образца.
- **YeastBuster™ Reagent** - извлекает белки из дрожжей и растений без механического разрушения или ферментативного лизиса. Реагент апробирован на штаммах *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia Pastoris*, *P. stipidis*, *Schizosaccharomyces pombe*, а также на растительных клетках.
- **Insect PopCulture® Reagent** - позволяет экстрагировать белок из общей культуры клеток непосредственно в культуральную среду без необходимости центрифугирования. Реагент Insect PopCulture® на основе детергента лизирует клетки насекомых непосредственно в бессывороточной среде. Идеально подходит для скрининга экспрессии множества небольших образцов для экстракции из клеток насекомых (в суспензии или прилипшей).
- **Stabilyser™ Reagent** – Позволяет защитить как нуклеиновые кислоты, так и функциональные белки в одной однородной смеси лизата. Реагент Stabilyser™ обеспечивает длительное хранение и защиту от циклов замораживания/оттаивания.

Stabilyser™ Reagent

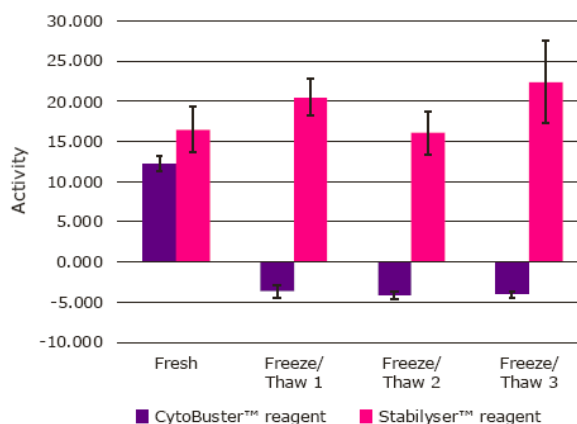
Стабилизация ДНК, РНК и белков в тканевых экстрактах. Единственный реагент, который защищает целостность нуклеиновых кислот и активного белка в одной однородной смеси лизата. Позволяет стабилизировать полные однородные гомогенаты тканей, обеспечивая сопоставимость образцов. Удобный универсальный состав Stabilyser™ защищает аналиты во время лизиса и обеспечивает защиту от циклов замораживания/оттаивания во время длительного хранения для будущих потребностей в обнаружении:

- Сохранение функционально активных белков и нуклеиновых кислот из одних и тех же образцов тканей.
- Долгосрочное хранение и защита от циклов замораживания/оттаивания для будущих потребностей в обнаружении.
- Возможность архивации образцы тканей, если в будущем потребуется изменить аналит.

А.



В.



Реагент Stabilyser™ экстрагирует более высокие выходы белка, примерно в 5 раз больше, чем буфер PBS, и в 2 раза больше, чем реагент CytoBuster™. Кроме того, реагент Stabilyser™ защищает ферментативную активность во время нескольких циклов замораживания/оттаивания.

(А) Срезы куриных сердец массой 250 мг лизировали в 5 мл реагентов CytoBuster™, Stabilyser™ или буфера PBS. Образцы нормализовали и загружали по 10 мкг белка на дорожку.

(В) Ферментативную активность измеряли каждые два дня после цикла замораживания/оттаивания с использованием нашего набора для анализа активности IDH на образцах, хранившихся при -20°C.

Реагенты для лизиса CellLytic™

Реагенты **CellLytic™** специально разработаны для лизиса и экстракции клеточных белков в зависимости от типа системы экспрессии. Все они предназначены для быстрого лизиса клеток по простому протоколу. Семейство лизирующих реагентов CellLytic™ совместимо с широким спектром ингибиторов протеаз, хелатирующих агентов и хаотропов. Поскольку белки находятся в неденатурирующей среде, эти реагенты не мешают стандартной аффинной хроматографии. Последующие применения, такие как вестерн-блоттинг, анализы сдвига в геле, аффинная очистка и обнаружение репортеров, можно выполнять без удаления реагента CellLytic™.

Общая эффективность экстракции неизменно выше, чем при использовании других распространенных протоколов, таких как замораживание-оттаивание или обработка ультразвуком. Хотя каждый реагент CellLytic™ имеет уникальную формулу, все они могут быть масштабированы для удовлетворения потребностей любой лаборатории.



Особенности и преимущества

- **Эффективность:** более высокая эффективность экстракции белка, чем традиционные методы, такие как обработка ультразвуком и лизоцим.
- **Неденатурирующий:** не мешает последующим применениям, включая иммунопреципитацию, анализы киназы и фосфатазы, анализы репортерных генов и анализы сдвига геля.
- **Удобный,** готовый к использованию реагент.

Реагенты для лизиса CellLytic™ специально разработаны для лизиса и экстракции клеточных белков в неденатурирующих условиях в зависимости от типа клеток или тканей и локализации целевого белка.

Приложение	Описание	Catalog No.
Бактерии	CellLytic™ B Реагент для лизиса клеток, 10X концентрат	C8740
	CellLytic™ B Реагент для лизиса клеток, 2X Концентрат	B7310
	CellLytic™ B Реагент для лизиса клеток, Стандартный	B7435
	CellLytic™ B Plus Kit набор	CB0050, CB0500
	CellLytic™ Express реагент, для лизиса бактериальных клеток в культуре	C1990
	CellLytic™ Express реагент, таблетки объемом 1 мл, для прямого лизиса бактериальных культур и для использования в колонке His-Select®iLAP.	C5236
Клетки млекопитающих	CellLytic™ M, Реагент для лизиса клеток	C2978
	CellLytic™ Mem Protein Extraction Kit, набор для экстракции белков мембран	CE0050
	CellLytic™ MT Cell Lysis Reagent, для тканей млекопитающих	C3228
	CellLytic™ Nuclear™ Extraction Kit, для тканей млекопитающих или культивированные клетки	NXTRACT
Растения	CellLytic™ P Реагент для лизиса клеток	C2360
	CellLytic™ PN Isolation / Extraction Kit, для листьев растений	CELLYTPN1
Дрожжи	CellLytic™ Y Реагент для лизиса клеток	C4482
	CellLytic™ Y Plus Kit для ферментативного лизиса дрожжевых клеток	CYP1

Усилители лизиса клеток и удаления нуклеиновых кислот

Ферменты обеспечивают немеханический метод лизиса клеток бактерий и подготовки протопластов.

ЭКСТРАКЦИОННЫЕ ФЕРМЕНТЫ И ДРУГИЕ РЕАГЕНТЫ.

- **Раствор rLysozyme™:** ферментативно расщепляет связи в слое пептидогликана бактерий, прорывая клеточную стенку для лизиса или подготовки сферопластов, особенно эффективен против грамположительных видов.
- **Ахромопептидаза:** бактериолитическая сериновая протеаза, для лизиса грамположительных бактерий, устойчивых к лизоциму.
- **Литиказа:** ферментативно расщепляет слои β-глюкана клеточной стенки дрожжей, обеспечивая доступ к содержимому клетки. Переваривание внешнего слоя помогает подготовить сферопласты к лизису или трансформации.
- **Хитиназа:** расщепление клеточной стенки безопасно происходит за счет разложения хитина в грибах и других организмах.
- **Мультилитическая смесь:** MetaPolyzyme, смесь 6 ферментов для труднолизуемых образцов.
- **Литические ферменты без ДНК:** для образцов с низкой биомассой, чувствительных к микробному загрязнению ДНК.
- **Нуклеаза бензоназа®:** разрушает все типы нуклеиновых кислот для более эффективной экстракции белков, снижения вязкости и помех при анализе, что обеспечивает более точную обработку образцов и более быструю хроматографию. Узнайте больше на нашей странице вопросов и ответов.
- **Реагент для биообработки Lysonase™:** удобная смесь раствора rLysozyme™ и нуклеазы Benzonase® сводит к минимуму количество операций пипетирования.



rLysozyme™ Solution / Раствор R-лизоцима™

Номер продукта **71110** rLysozyme™ Solution

Стабилизированный раствор рекомбинантного лизоцима для разрушения стенок бактерий.

Раствор rLysozyme™ может быть использован для лизиса *E. coli*. Фермент катализирует гидролиз N-ацетилмурамидных связей в клеточных стенках бактерий. Удельная активность раствора rLysozyme™ (1700 Ед/мг) в отношении лизиса *E. coli* в 250 раз превышает активность традиционного лизоцима белка куриного яйца. Раствор rLysozyme™ оптимально активен при физиологическом рН.

Очень небольшие количества раствора rLysozyme™ повышают эффективность экстракции белка с помощью реагентов BugBuster® и PopCulture®.

Продукт поставляется в виде готового к использованию раствора и стабилен при температуре - 20 °С.

Ахромопептидаза

Номер продукта **A3422** (частично очищенный порошок, 20 000–40 000 единиц/мг твердого вещества)

Номер продукта **A3547** (сырой порошок, 800–3 200 единиц/мг твердого вещества)

Номер продукта **A7550** (сырой порошок, 300–600 единиц/мг твердого вещества)

Ахромопептидаза представляет собой лизилэндопептидазу с молекулярной массой ~ 27 кДа. Он полезен для лизиса грамположительных бактерий, устойчивых к лизоциму.

рН Оптимум по активности: рН ~ 8,5 – 9.

Приблизительно 500-1500 ед/мл ахромопептидазы можно использовать для лизиса клеток при плотности $A_{600} = 0,6$ в течение 2 часов при 37 °С.

Хитиназа

Номер продукта **C6137** от *Streptomyces griseus*

Номер продукта **C8241** от *Trichoderma viride*

Хитиназа представляет собой внеклеточный ферментный комплекс массой 30 кДа (приблизительно), который расщепляет хитин.

Хитин разлагается до N-ацетил-D-глюкозамина в двух ферментативных реакциях. Во-первых, хитобиозные звенья удаляются из хитина с помощью хитодекстриназы-хитиназы, поли(1,4-β-[2-ацетиамидо-2-дезоксид-глюкозид]-гликаногидролазы. Во второй реакции участвует N-ацетил-глюкозаминидаза-хитобиаза, которая расщепляет дисахарид до его мономерных субъединиц N-ацетил-D-глюкозамина.

Фермент можно разделить на эндо- и экзохитиназу. Эндохитиназная активность включает случайное расщепление во внутренних точках хитиновой цепи. Активность экзохитиназы представляет собой прогрессивное действие, которое начинается с невозстанавливающего конца хитина и высвобождает хитобиозные или N-ацетилглюкозаминовые единицы.

Benzonase® Nuclease / Бензоназа® Нуклеаза

Эффективно снижает вязкость и удаляет нуклеиновые кислоты из белковых растворов.

Бензоназа® Нуклеаза представляет собой генно-инженерную эндонуклеазу *Serratia marcescens*. Реагент разрушает все формы ДНК и РНК (одноцепочечные, двухцепочечные, линейные и кольцевые), не обладая при этом протеолитической активностью. Эффективен в широком диапазоне условий и обладает исключительно высокой удельной активностью. Нуклеаза Benzonase® — отличный выбор для снижения вязкости, сокращения времени обработки и увеличения выхода белка.

- Соответствует рекомендациям FDA по загрязнению нуклеиновыми кислотами.
- Функционален при рН от 6 до 10, от 0 °С до 42 °С, для максимальной универсальности.
- Активен в присутствии ионных и неионогенных моющих средств, восстановителей, ПМСФ (1 ммоль), ЭДТА (1 мм) и мочевины.
- Доступен в сверхчистом (> 99 % по SDS-PAGE) и чистом (> 90 %) сортах.
- Доступен в стандартной концентрации (25 ед/мкл) и высокой концентрации (НС, 250 ед/мкл).

Номер продукта 70746 Benzonase®Nuclease, Purity >90%

Номер продукта 71205 Benzonase®Nuclease HC, Purity >90%

Номер продукта 70664 Benzonase®Nuclease, Purity >99%

Номер продукта 71206 Benzonase®Nuclease HC, Purity >99%

Номер продукта 71230 Lysonase™ Bioprocessing Reagent

Лизоцим из белка куриного яйца

Номер продукта **71412** Chicken Egg White Lysozyme Solution

Номер продукта **L6876** (диализированный, лиофилизированный, около 50 000 ед/мг)

Номер продукта **L7651** (класс молекулярной биологии, лиофилизированный, около 50 000 ед/мг)

Номер продукта **L/US/en7001** (лиофилизированный, около 50 000 ед/мг)

Номер продукта **L7773** (в асептической упаковке, лиофилизированный, около 50 000 ед/мг)

Номер продукта **L2879** (хлорид, лиофилизированный, около 60 000 ед/мг)



Человеческий лизоцим

Номер продукта [L1667](#) (рекомбинантный, экспрессированный в рисе)

Номер продукта [L6394](#) (из грудного молока)

Номер продукта [L8402](#) (из нейтрофилов человека)

Лизоцим представляет собой одноцепочечный белок с молекулярной массой 14,3 кДа. Гидролизует $\beta(1-4)$ -связи между N-ацетилмураминовой кислотой и остатками N-ацетил-D-глюкозамина в пептидогликанах и между остатками N-ацетил-D-глюкозамина в хитодекстрине. Грамположительные клетки весьма чувствительны к этому гидролизу, поскольку их клеточные стенки содержат большое количество пептидогликана. Грамотрицательные бактерии менее восприимчивы из-за наличия внешней мембраны и меньшей доли пептидогликана. Однако эти клетки легче гидролизуются в присутствии ЭДТА, которая хелатирует ионы металлов во внешней бактериальной мембране.

Оптимальный pH: активность лизоцима зависит как от pH, так и от ионной силы. Фермент активен в широком диапазоне pH (от 6,0 до 9,0). При pH 6,2 максимальная активность наблюдается в более широком диапазоне ионных сил (от 0,02 до 0,100 М), чем при pH 9,2 (от 0,01 до 0,06 М).

Для процедуры лизиса используют свежеприготовленный раствор 500 000 ед/мл в 10 мМ Трис-НСl, pH 8,0. Продукт также растворим в воде (10 мг/мл), образуя прозрачный или слегка мутный бесцветный раствор. Водные растворы должны быть стабильными в течение как минимум одного месяца при хранении в холодильнике при температуре 2–8 °С. 25 мкл этого маточного раствора обычно лизуют *E. coli* из >1 мл клеточного осадка культуральной среды, ресуспендированного в 350 мкл 10 мМ трис-НСl, pH 8,0, с 0,1 М NaCl, 1 мМ ЭДТА и 5% [мас./об.] ТРИТОН. X-100. Типичные условия инкубации для лизиса составляют 30 минут при 37 °С.

Лабиаза

Номер продукта [L1414](#) (порошок) От *Streptomyces fulvissimus*.

Лабиаза из *Streptomyces fulvissimus* представляет собой ферментный препарат, полезный для лизиса многих грамположительных бактерий, таких как *Lactobacillus*, *Aerococcus* и *Streptococcus*.

Лабиаза содержит β -N-ацетил-D-глюкозаминидазу и лизоцимную активность.

pH Оптимальный по активности: pH ~ 4.

pH Оптимальный для стабильности: pH ~ 4-8.

Лизостафин

Номер продукта [L7386](#) (лиофилизированный порошок, минимум 500 единиц/мг белка)

Номер продукта [L4402](#) (лиофилизированный порошок, минимум 2000 единиц/мг белка, >97% по SDS-PAGE)

Номер продукта [L2898](#) (лиофилизированный порошок в асептической упаковке, мин. 500 единиц/мг белка)

Номер продукта [L9043](#) (лиофилизированный порошок минимум 3000 единиц/мг твердого белка)

Лизостафин представляет собой эндопептидазу цинка с молекулярной массой около 25 кДа. Поскольку лизостафин расщепляет полиглициновые поперечные связи в пептидогликановом слое клеточной стенки видов *Staphylococcus*, он оказался полезным для лизиса клеток, а также в качестве потенциального противомикробного терапевтического средства.

pH Оптимум по активности: pH ~ 7,5.

Мутанолизин из *Streptomyces globisporus*

Номер продукта [SAE0092](#) (лиофилизированный, минимум 4000 ед/мг белка)

Номер продукта [M9901](#) (лиофилизированный, минимум 4000 ед/мг белка)

Номер продукта [M4782](#) (асептически наполненный, лиофилизированный, минимум 4000 ед/мг белка)

Мутанолизин обеспечивает мягкий лизис клеток для выделения легко разлагаемых биомолекул и РНК из бактерий. Его использовали при формировании сферопластов для выделения ДНК.

Мутанолизин представляет собой N-ацетилмурамидазу с молекулярной массой 23 кДа, как и лизоцим, представляет собой муралитический фермент, который расщепляет связь N-ацетилмурамил- $\beta(1-4)$ -N-ацетилглюкозамин полимера бактериальной клеточной стенки пептидогликан-полисахарид. Его карбокси-концевые фрагменты участвуют в распознавании и связывании уникальных полимеров клеточной стенки. Мутанолизин лизирует *Listeria* и другие грамположительные бактерии, такие как *Lactobacillus* и *Lactococcus*.

α -гемолизин из *золотистого стафилококка*

Номер продукта [H9395](#)

α -Гемолизин — внеклеточный белок, секретируемый большинством штаммов патогенного золотистого стафилококка.

Зрелый белок содержит 293 остатка с молекулярной массой 33 кДа. Он состоит на 65% из β -листов и на 10% из α -спиральных структур.

α -Гемолизин секретируется в виде водорастворимого мономера, который первоначально связывается и встраивается в мембрану клетки-мишени. Мономеры собираются в гептаметрическую пору. Пору обеспечивает быстрый выход K^+ и приток Na^+ и Ca^+ . Осмотическое набухание эритроцитов в конечном итоге приводит к их разрыву.



Литические ферменты без ДНК

Корпорация MERCK предлагает постоянно растущий список микробных литических ферментов, не содержащих ДНК, и смесей ферментов, которые помогут улучшить лизис образцов микробиома без случайного загрязнения ДНК. Поскольку загрязнение ДНК во время подготовки образцов микробиома является серьезной проблемой при использовании подходов, основанных на последовательностях (секвенирование гена 16S рРНК и метагеномика), необходимы реагенты для экстракции ДНК, свободные от дополнительных примесей ДНК.

MAC4L МетаПолизим лиофилизированный порошок

MAC4LDF MetaPolyzyme, не содержит ДНК. Подходит для исследований микробиома, лиофилизированный порошок.

SAE0200 МусоPolyzyme для использования при лизисе дрожжей и грибов, не содержит примесей ДНК, подходит для исследований микробиома.

SAE0196 Ахромопептидаза из бактерий, не содержащая примесей ДНК, подходящая для исследования микробиома.

SAE0152 Лизоцим из белка куриного яйца, без примесей ДНК, подходит для исследований микробиома, лиофилизированный порошок, белок $\geq 90\%$, $\geq 40\ 000$ единиц/мг белка

SAE0158 Хитиназа из *Streptomyces griseus*, хроматографически очищенный, лиофилизированный порошок, не содержащий примесей ДНК, пригодный для исследования микробиома.

SAE0098 Литиказа из *Arthrobacter luteus*, не содержащая примесей ДНК, пригодна для исследования микробиома, ≥ 2000 единиц/мг белка, лиофилизированный порошок

SAE0091 Лизостафин из *Staphylococcus staphylolyticus*, свободный от примесей ДНК, подходит для исследования микробиома, лиофилизированный порошок, ≥ 500 единиц/мг белка

SAE0092 Мутанолизин из *Streptomyces globisporus* ATCC 21553, свободный от примесей ДНК, подходит для исследования микробиома, лиофилизированный порошок, ≥ 4000 единиц/мг белка (биурет)

SAE0151 Протеиназа К из *Tritirachium album*, не содержащая примесей ДНК, подходит для исследований микробиома, лиофилизированный порошок, ≥ 30 единиц/мг белка

Ферменты для разрушения клеточной стенки дрожжей

Лизирующие ферменты *Rhizoctonia solani* (киталаза),

Номер продукта [L8757](#) (порошок)

Основной ферментативной активностью является β -1,3-глюканаза, также сообщается, что она содержит протеазную, пектиназную и амилазную активности.

Литиказа из *Arthrobacter luteus*

Номер продукта [L2524](#) (порошок, минимум 2000 ед/мг белка)

Номер продукта [L4025](#) (порошок, минимум 200 ед/мг твердого вещества)

Номер продукта [L5263](#) (Порошок Zymolyase[®] 100T, минимум 3000 ед/мг белка)

Содержит β -1,3-глюкан ламинарипентаогидролазу с дополнительной активностью β -1,3-глюканазы, протеазы и маннаазы. Следовые активности могут включать ксиланазу, амилазу и фосфатазу. Сообщается, что он полезен для лизиса *Ashbya*, *Candida*, *Debaryomyces*, *Eremothecium*, *Endomyces*, *Hansenula*, *Hanseniaspora*, *Kloeckera*, *Kluyveromyces*, *Lipomyces*, *Metschikowia*, *Pichia*, *Pullularia*, *Torulopsis*, *Saccharomyces*, *Saccharomycopsis*, *Saccharomycodes* и *Schwanniomyces*.

Токсины для эукариотических клеток

Токсин - ядовитая небольшая молекула, пептид или белок, вырабатываемый в живых клетках. Некоторые токсины взаимодействуют с молекулами на поверхности клетки таким образом, что улучшают проникновение внутрь клетки. Эти токсины являются полезными инструментами для исследователей, которые хотят разрушить клетку.

Стрептолизин О из *Streptococcus pyogenes*

Номер продукта [SAE0089](#)

Номер продукта [S5265](#)

Номер продукта [S0149](#)

Стрептолизин О представляет собой токсин, представляющий собой одну полипептидную цепь с молекулярной массой 62 кДа.

Стрептолизин О связывается с мембранным холестерином и олигомеризуется, образуя кольцевую структуру, состоящую из 45–50 единиц. Кольцевая структура внедряется в мембрану, образуя большую пору (от 25 до 30 нм), через которую могут проходить ДНК, РНК, пептиды и белки.



α-гемолизин из золотистого стафилококка

Номер продукта [H9395](#) (лиофилизированный порошок, ≥10 000 единиц/мг белка)

α-Гемолизин представляет собой внеклеточный белок массой 33 кДа, секретируемый большинством штаммов патогенного *Staphylococcus aureus*.

Он обладает избирательным гемолитическим действием и отдает предпочтение эритроцитам кролика. Он вызывает дермонекроз, паралич мышц и смертелен для лабораторных животных.

Токсин должен находиться в мономерной форме, чтобы первоначально связываться с мембраной. Для связывания не требуются специфические рецепторы. При связывании с биологическими и/или искусственными мембранами происходит самоолигомеризация, приводящая к образованию кольцевых структур (гексамерных агрегатов), которые, как полагают, представляют собой трансмембранные поры, проницаемые для ионов и небольших метаболитов.

Считается, что α-гемолизин стимулирует клеточные фосфолипазы и индуцирует приток Ca^{2+} , что может привести к разрушению мембраны, утечке цитоплазматических компонентов, нарушению проницаемости мембран и осмотическому лизису клеток.

Тетанолизин из *Clostridium tetani*

Номер продукта [T5319](#) (лиофилизированный порошок)

Холестерин-связывающий токсин, используемый для проницаемости клеточных мембран и улучшения проникновения макромолекул внутрь клетки. Сообщается, что индуцированные поры находятся в диапазоне 20-50 нм.

Ферменты для лизиса растительных клеток

Растительные клетки окружены жесткой полупроницаемой клеточной стенкой. Клеточная стенка состоит в основном из полисахаридов с некоторыми белками и липидами. Тремя основными полисахаридными компонентами клеточной стенки являются целлюлоза, неразветвленные полимеры β-(1-4)-D-гликопиранозильных единиц, связанных в пучки микрофибрилл.

Микрофибриллы сшиты гемицеллюлозой (разветвленным полимером β-(1-4)-D-ксилопиранозильных звеньев). Эта сшитая структура встроена в матрицу пектина (в основном содержащую основную цепь α-(1-4) полигалактуроновой кислоты, которая может быть случайным образом ацетилирована и метилирована.

Целлюлаза

Препараты целлюлазы обычно представляют собой смеси ферментов, обладающих высокой целлюлазной активностью с некоторой гемицеллюлазной активностью. Эти смеси ферментов способны разлагать целлюлозу, маннаны, ксиланы, галактоманнаны, пектины и другие полисахариды.

из видов *Aspergillus*.

Номер продукта [C2605](#) (Novozymes Carezyme 1000 L)

Номер продукта [V2010](#) (Novozymes Viscozyme L)

из *Aspergillus niger*,

номер продукта [C1184](#) (порошок, мин. 0,3 ед/мг)

из *Basidiomycetes* sp,

номер продукта [D9515](#) (Дризеллаза, порошок)

из *Trichoderma reesei*

Номер продукта [C8546](#) (порошок, мин. 1,0 ед/мг)

Номер продукта [C2730](#) (Novozymes Celluclast 1,5 л)

из *Trichoderma viride*

Номер продукта [C0615](#) (Якулт Онозука RS)

Номер продукта [C1794](#) (проверенная культура клеток, порошок, мин. 3,0–10 ед/мг)

Номер продукта [C9422](#) (порошок, мин. 3,0–10 ед/мг)

Пектиназа и пектолиаза

Пектиназа катализирует случайный гидролиз 1-4-α-D-галактозидуроновых связей в пектинах и других галактуронанах. Пектолиаза катализирует элиминативное расщепление метилового эфира (1-4)-α-D-галактуронан с образованием олигосахаридов с 4-дезоксигалакто-6-О-метил-α-D-галакт-4-енуранозильными группами на невозстанавливаемых концах.

Пектиназа

из *Aspergillus aculeatus*,

номер продукта [P2611](#) (Novozymes Pectinex Ultra SPL)



из *Aspergillus niger*

Номер продукта [P2736](#) (Novozymes Pectinex 3XL)

Номер продукта [P4716](#) (водный раствор глицерина, минимум 5 ед/мг белка)

Номер продукта [P0690](#) (проверено на культуре растительных клеток)

из видов *Rhizopus*

Номер продукта [P2401](#) (Мацерозим R10, сырой порошок, 400–800 ед/г)

Номер продукта [P4300](#) (проверено на культуре растительных клеток)

Пектолиаза

из *Aspergillus japonicus*

Номер продукта [P3026](#) (лиофилизированный, мин. 0,3 ед/мг)

Номер продукта [P5431](#) (лиофилизированный, минимум 2 ед/мг)

Номер продукта [P5936](#) (проверено на культуре растительных клеток)

Наборы для выделения белков ProteoExtract®

Набор ProteoExtract® для экстракции субклеточного протеома (S-ПЕК) обеспечивает воспроизводимую экстракцию субклеточных протеомов из клеток млекопитающих.

Основываясь на различной растворимости определенных субклеточных компартментов, S-ПЕК использует запатентованные химические процессы для получения четырех фракций субпротеома, которые обогащены цитозольными, мембранными/органелльными, ядерными и цитоскелетными белками. В случае прикрепившихся клеток процедуру проводят непосредственно в чашке с тканевой культурой без необходимости удаления клеток. Для клеток, выращенных в суспензии, экстракция начинается с осторожного осаждения и промывки клеток. Экстракция из тканей требует выделения жизнеспособных клеток, прежде чем приступить к протоколу экстракции.

Применение S-ПЕК:

- Анализы субклеточного перераспределения для мониторинга транслокации белков.
- Анализы активности ферментов, включая анализы репортерных генов и анализы киназы.
- SELDI (лазерная десорбция с улучшенной поверхностью/ ионизация) профилирование
- Неденатурирующий гель-электрофорез.
- Анализ уровней экспрессии белка с использованием флуоресцентно меченных субклеточных экстрактов на микрочипах.

ProteoExtract® Набор для экстракции нативного мембранного белка (M-ПЕК)

Предназначен для выделения нативных мембранных белков из клеток и тканей млекопитающих. Чрезвычайно мягкие условия экстракции приводят к 3–5-кратному обогащению интегральных мембранных и мембраносвязанных белков. Простая двухэтапная процедура позволяет обрабатывать несколько образцов параллельно. Экстракция из тканей требует выделения жизнеспособных клеток, до начала выполнения протокола экстракции.

Применение экстрагированных мембранных белков:

- Анализы активности ферментов, включая анализы репортерных генов и анализы киназы.
- Неденатурирующий и денатурирующий гель-электрофорез, иммуноблоты и иммуноанализы.
- Анализ посттрансляционных модификаций, таких как фосфорилирование.
- SELDI-профилирование интегральных и мембранассоциированных белков.
- NHS эфирная маркировка мембранных белков.

Применение	Описание	Catalog No.
Фракционирование органелл	ProteoExtract® Subcellular Protein Extraction Kit	539790
	ProteoExtract® Complete Mammalian Protein Extraction Kit	539779
	ProteoExtract® Cytosol/Mitochondria Fractionation Kit	QIA88
	ProteoExtract® Native Cytoskeleton Enrichment Kit	17-10210
	ProteoExtract® Cytoskeleton Enrichment and Isolation Kit	17-10195
Белки мембран	ProteoExtract® Native Membrane Protein Extraction Kit	444810



	ProteoExtract® Transmembrane Protein Extraction Kit	71772
Масс-спектрометрическое обогащение пептидов	ProteoExtract® All-in-One Trypsin Digestion Kit	650212
	ProteoExtract® Glycopeptide Enrichment Kit	72103
	ProteoExtract® Phosphopeptide Enrichment TiO ₂ Kit	539722

Наборы для лизиса ProteoPrep®

Наборы ProteoPrep® и отдельные реагенты для экстракции позволяют избирательно или тотально извлекать белковые экстракты из образцов клеток. Экстракты белка, полученные с использованием каждого компонента, могут быть оптимизированы в соответствии с вашими индивидуальными потребностями.

Восстанавливающие и алкилирующие реагенты позволяют получить образцы белков, которые демонстрируют улучшенную фокусировку и уменьшение полосатости в 2D-гелях. Каждого компонента достаточно для обработки нескольких образцов белка. Для исследователей, которые оптимизировали протокол экстракции с использованием одного реагента для хаотропной экстракции, каждый реагент из набора также доступен как отдельный продукт.

Особенности и преимущества:

- Инновационные моющие средства - улучшенная растворимость обеспечивает более высокую белковую нагрузку и лучшую видимость белков с низким содержанием в 2D-гелях.
- Предварительно смешанные растворы для солюбилизации.

Описание	Catalog No.
ProteoPrep® Total Extraction Sample Kit. Набор образцов для полной экстракции	PROTTOT
ProteoPrep® Universal Extraction Kit. Универсальный комплект для экстракции	PROTTWO
ProteoPrep® Membrane Extraction Kit. Набор для экстракции из мембран	PROTMEM
ProteoPrep® Detergent Sample Kit. Набор для отмывки образцов	PROTDT
ProteoPrep® Reduction and Alkylation Kit. Набор для восстановления и алкилирования	PROTRA

RIPA-БУФЕР (Кат. № P0278)

Буфер для радиоиммунопреципитационного анализа (RIPA) для быстрого и эффективного лизиса клеток и солюбилизации белков как из адгезивных, так и из суспензионно культивируемых клеток млекопитающих. Буфер RIPA обеспечивает эффективный лизис клеток и солюбилизацию белков, избегая при этом деградации белков и вмешательства в иммунореактивность и биологическую активность. Буфер RIPA также обеспечивает низкий фон в анализах иммунопреципитации и молекулярного анализа. Совместим с гелями EZview™ Affinity.

Буфер RIPA сводит к минимуму неспецифические взаимодействия с белками, чтобы поддерживать низкий уровень фона, в то же время позволяя происходить наиболее специфическим взаимодействиям, что позволяет проводить исследования соответствующих белок-белковых взаимодействий. Он широко используется в таких приложениях, как иммунопреципитация, поскольку компоненты этого буфера не оказывают негативного влияния на большинство антител и белковых антигенов.

Буфер RIPA поставляется в виде готового к использованию раствора, не требующего подготовки.

Готовый к использованию раствор, содержит 150 мМ NaCl, 1,0 % IGEPAL® CA-630, 0,5 % дезоксихолат натрия, 0,1 % SDS, 50 мМ Трис, рН 8,0.

1 мл буфера RIPA используется для лизиса клеток из одной культуральной чашки диаметром 100 мм (от 0,5 до 5*10⁷ клеток) большинства прикрепившихся клеточных линий млекопитающих.