

LEXSY – Eukaryotic Protein Expression



- ▶ *Fast growth & high yields*
- ▶ *Post translational modifications*
- ▶ *Easy handling & purification*



IFTA AG
Certified QMS according to
DIN EN ISO 9001
Reg. No. IC 03214 034

 **interchim**

www.jenabioscience.com

 **Jena Bioscience**

Jena Bioscience GmbH was founded in 1998 by a team of scientists from the Max-Planck-Institute for Molecular Physiology in Dortmund. 25+ years of academic know how were condensed into the company in order to develop innovative reagents and technologies for the life science market.

Since the start up, the company has evolved into an established global reagent supplier with more than 5500 products on stock and > 3000 customers in 50+ countries. Jena Bioscience serves three major client groups:

- **Research laboratories at universities, industry, government, hospitals and medical schools**
- **Pharmaceutical industry in the process from lead discovery through to pre-clinical stages**
- **Laboratory & diagnostic reagent kit producers and re-sellers**

Our company premises are located in the city of Jena / Germany with a subsidiary in Teltow, in the vicinity of the German capital Berlin.



Jena Bioscience's products include nucleosides, nucleotides and their non-natural analogs, recombinant proteins & protein production systems, reagents for the crystallization of biological macromolecules and tailor-made solutions for molecular biology and biochemistry.

In our chemistry division, we have hundreds of natural and modified nucleotides available on stock. In addition, with our pre-made building blocks and in-house expertise we manufacture even the most exotic nucleotide analog from mg to kg scale.

In the field of recombinant protein production, Jena Bioscience has developed its proprietary LEXSY technology. LEXSY (*Leishmania* Expression System) is based on a S1-classified unicellular organism that combines easy handling with a full eukaryotic protein folding and modification machinery including mammalian-like glycosylation. LEXSY is primarily used for the expression of proteins that are expressed at low yields or are inactive in the established systems, and expression levels of up to 500 mg/L of culture were achieved.

For the crystallization of biological macromolecules – which is the bottleneck in determining the 3D-structure of most proteins – we offer reagents and tools for crystal screening, crystal optimization and phasing that can reduce the time for obtaining a high resolution protein structure from several years to a few days.

Our specialized reagents are complemented with a large selection of products for any molecular biology & biochemistry laboratory such as kits for Standard PCR and Real-Time PCR, fluorescent probes, oligonucleotides, cloning enzymes, mutagenesis technologies, and many more...

We combine highest quality standards for all our products (certified according to DIN EN ISO 9001) with individualized customer support. We establish direct lines of communication from clients to our in-house scientists, resulting in productive interactions among people with similar research interests who speak the same language. Furthermore, we offer support programs and attractive discount schemes for young scientists establishing their own labs. If you wish to receive more information, just send an e-mail to info@jenabioscience.com.

Imprint

Design and Layout by:

timespin - Digital Communication GmbH
Sophienstrasse 1, 07743 Jena
www.timespin.de

Copyright:

Please contact Jena Bioscience if you want to use texts and/or images in any format or media.

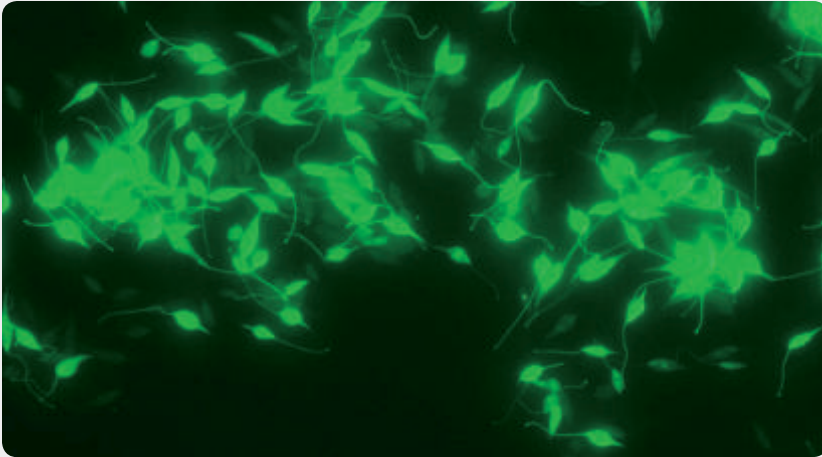


Table of Contents

Introduction	4
Overcoming limitations of other expression systems	4
LEXSY Configurations	7
<i>In Vivo LEXSY</i>	7
<i>In Vitro LEXSY</i>	15
Applications and selected examples	18
<i>Solubility and functionality of recombinant proteins</i>	18
<i>Mammalian-type glycosylation</i>	19
<i>Expression of complex oligomeric proteins</i>	20
<i>Expression of recombinant antibodies</i>	20
<i>Structural biology: LEXSY proteins for NMR and X-ray crystallography</i>	20
<i>LEXSY in parasitology</i>	21
References	23
International distributors	24

Introduction

The *Leishmania* expression system **LEXSY** is the proprietary eukaryotic protein expression platform by Jena Bioscience. LEXSY is based on the protozoan host *Leishmania tarentolae* and was designed to combine eukaryotic protein synthesis and modification with simplicity and ease of handling.



L. tarentolae is a robust, unicellular, flagellated eukaryotic organism of circa 5 x 15 µm size (Figure 1). It was isolated from lizards *Tarentolae annularis* and *Tarentolae mauritanica* and has been cultivated in axenic culture over decades. It is not pathogenic to mammals and is fully approved for use in biosafety level 1 laboratories (S1).

Figure 1

Cultured *Leishmania tarentolae* cells expressing green fluorescent protein

LEXSY and all of its components are commercially available world-wide. Licensing is not required for non-profit research institutions such as universities; however, the use of LEXSY and its components for commercial purposes requires a license from Jena Bioscience. For more information and terms of licensing, please contact expression@jenabioscience.com.

Overcoming limitations of other expression systems

Prokaryotic expression systems such as *E. coli* lack essential components for protein folding and modification and are therefore, in most cases not suitable for production of functional proteins of higher organisms. Alternative eukaryotic expression systems based on e.g. mammalian or insect cells however, require long development cycles and deliver low

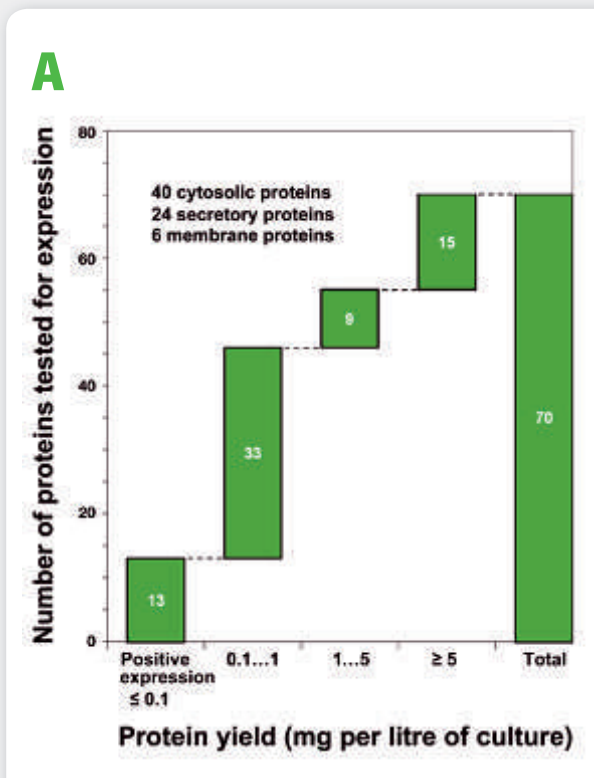
protein yields resulting in costs that are magnitudes above those of *E. coli*-produced proteins.

Hence, LEXSY was developed in order to make use of its eukaryotic protein synthesis and folding/modification machinery and its simplicity and ease of handling.

PROTEIN SYNTHESIS AND FOLDING/MODIFICATION MACHINERY

LEXSY FEATURES:

- Eukaryotic protein synthesis for correct folding (no inclusion bodies)
- Full range of Post-Translational Modifications including mammalian-type N-glycosylation, glypiation, phosphorylation, acetylation, prenylation, myristoylation, ADP-ribosylation, proteolytic processing and oligomerisation
- High expression-success rates with yields of up to 500 mg per litre of culture (Figure 2)



Target protein	Size (kDa)	Yield (mg/L)
Cytoplasmic proteins		
EGFP	28	300
SOD1	16	30
SPEE	35	30
p85 of PI3 kinase	85	3
smmyHC	154	1
Nuclear proteins		
T7 RNA Pol	100	1
Secreted proteins		
MHC II- β	30	500
CRP	23	44
SAG1&2	15/31	10
Fc fusion	39	10
MDP1	45	6
Laminin 332	420 (150+135+135)	0.5
Membrane proteins		
EGFP-Rab7 (mb-associated)	52	12
PDM9 (Type I)	43	0.5
BkrB2-GST (Type III TM7)	55	0.1

LEXSY performs mammalian-type glycosylation

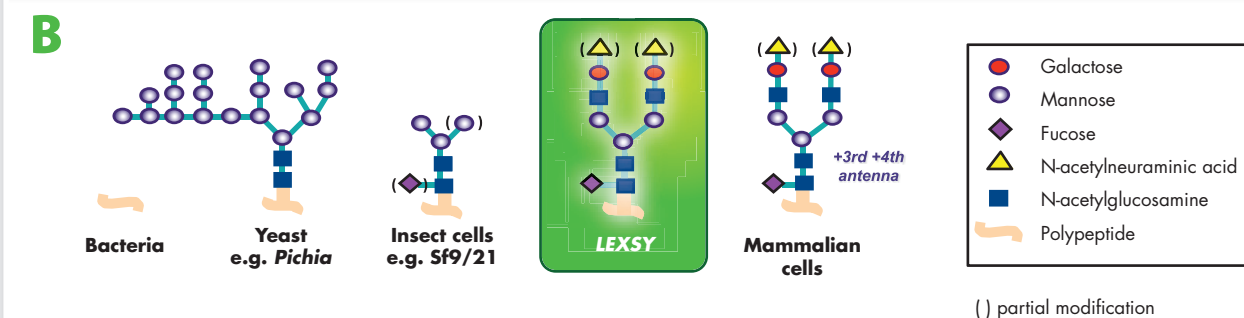


Figure 2

A: Expression of 70 proteins was screened in LEXSY. After cultivation for 2–3 days in suspension culture more than 80% were expressed at > 0.1 mg/L of culture.

Table: Typical examples of LEXSY-expressed proteins clustered by type of protein. SOD1 = human Cu/Zn superoxide dismutase; EGFP = enhanced green fluorescent protein of *A. victoria*; SPEE = human spermidine synthetase; p85 = bovine Phosphoinositide 3-Kinase regulatory subunit α ; smmyHC = heavy chain of human smooth muscle myosine; T7 RNA Pol. = RNA polymerase of phage T7 supplied with nuclear localization signal; MHC II- β = human Major Histocompatibility Complex II β subunit (Wienhold *et al.*, not published); CRP = human C-reactive protein of pentaxin family; SAG1/2 = surface antigens of *Toxoplasma gondii* (Fritsche *et al.* 2008); Fc fusion = N-terminal fusion of DNA binding domain to

human Fc fragment (Figure 17); MDP1 = human renal dipeptidase 1; Laminin 332 = large heterotrimeric human laminin glycoprotein $\alpha 3\beta 3\gamma 2$ (Figure 16, Phan *et al.* 2009); EGFP-Rab7 = EGFP fusion of Ras-associated small GTP-binding protein Rab7 (membrane associated by prenylation); BrkB2-GST = GST fusion of human bradykinin receptor B2 (7TM transmembrane protein); PDM9 = human transmembrane protein with EGF-like and two follistatin-like domains 2 (type I membrane protein N out).

B: Glycosylation in LEXSY was investigated with human erythropoietin (EPO), human interferon gamma (hu IFN γ) and host surface glycoprotein GP63. In all cases a biantennary, fully galactosylated, core- α -1,6-fucosylated N-glycan structure was found that is similar to mammalian-type glycosylation (Breitling *et al.* 2002).

SIMPLICITY AND EASE OF HANDLING – FROM GENE TO PROTEIN WITHIN SIX WEEKS

LEXSY exerts

- Biosafety level 1 (S1, as *E. coli*)
- Easy plasmid generation in *E. coli* shuttle vectors
- High transfection efficiencies using established electroporation protocols
- Cultivation in inexpensive media at 26°C – no cell culture equipment necessary
- Rapid growth of LEXSY expression strains to high cell densities (10^9 cells/ml)
- Easy harvest and downstream processing (Figure 3).



Figure 3

A: The LEXSY technology enables short evaluation cycles. Target genes are inserted into LEXSY expression vector and LEXSY host is transfected by electroporation. Recombinant clones are expanded for expression evaluation in small scale suspension cultures (typically 1-10 ml). Up-scaled cultivation is used for protein production and purification. The overall procedure requires typically six weeks from cloning to purified protein.

B: Due to fast growth of LEXSY strains in agitated suspension cultures up to 40 generations per week were achieved whereas with insect or

mammalian cells only 10 or 7 generations per week, respectively, were obtained.

C: LEXSY strains grow to cell densities known from bacterial cultures. For comparison the different host cultures were inoculated at the same density of 10^5 cells/ml and growth was monitored by cell counting. Following routine inoculation at 10^6 cells/ml agitated laboratory LEXSY cultures reach 3×10^8 cells/ml within 48 h for optimal harvest of cells and protein purification (not shown). In high density fermentations up to 10^9 cells/ml were obtained for LEXSY cultures (Fritsche *et al.* 2007).

LEXSY Configurations

The LEXSY protein expression technology is available as live cell-based expression system (*In Vivo* LEXSY) and as cell-free translation system (*In Vitro* LEXSY) (Table 1).

***In Vivo* LEXSY** requires construction of an *L. tarentolae* expression strain that is suitable for fermentation in inexpensive media and that delivers high yields of recombinant proteins.

***In Vitro* LEXSY** allows protein production directly from a gene of interest (either as a PCR product or sub-cloned into an appropriate DNA vector) enabling ultrafast production of a large number of proteins in parallel but which is not suitable for infinite upscale.

Table 1

In Vivo versus *In Vitro* LEXSY

<i>In Vivo</i> LEXSY	<i>In Vitro</i> LEXSY
From gene to protein within approximately 6 weeks	From gene to protein within 2 days or less
Scalable, suitable for production of large amounts of recombinant protein by cultivation in inexpensive media	Small scale protein preparation only
Low costs	High costs

In Vivo LEXSY

In Vivo LEXSY is available in two principle configurations that are constitutive or inducible.

The **constitutive** system is the basic architecture that permits efficient production of a large variety of proteins. It is based on integration of an expression cassette into the chromosomal *ssu*-locus encoding the tandem 18S rRNA genes (Figure 4). This cluster is transcribed by the endogenous RNA Polymerase I.

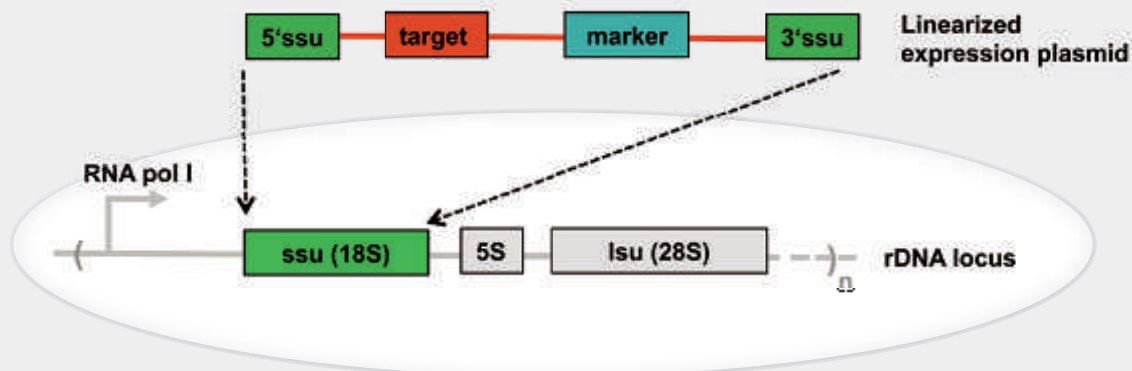


Figure 4

Architecture of constitutive LEXSY. Following transfection the linearized expression cassette carrying the target gene is integrated into one copy of the 18S rRNA genes (*ssu*) by homologous recombination. For selection, four alternative antibiotic resistance markers are available (Table 2).

The **inducible** LEXSY (Figure 5) enables tight control of protein expression analogous to the well-known bacterial T7 expression architecture. Expression is switched on by addition of an inducer (tetracycline) and thereby alleviates potential toxicity issues of an expressed protein. Further, it was shown for a number of intracellular proteins that inducible expression achieves 5 – 10-fold higher yields than constitutive expression.

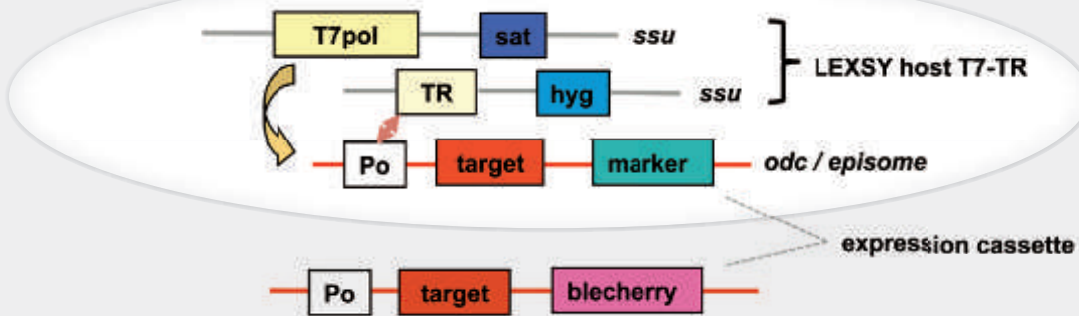


Figure 5

Architecture of inducible LEXSY. Engineered LEXSY host T7-TR expresses bacterial T7 RNA polymerase and TET repressor. Following transfection target gene is expressed under control of T7 promoter-TET operator assembly (more details are given in the text).

Both, the constitutive and the inducible configuration, permit **intracellular** or **secretory** expression of proteins from the same vector simply by choosing the way of cloning: Secretion is achieved by fusion of the mature part of the target gene to a *Leishmania* signal peptide encoding sequence present on the vector (Figure 6), and is recommended for proteins that undergo Post-Translational Modifications such as disulfide bond formation or glycosylation. LEXSY was shown to yield exceptionally homogeneous mammalian-type N-glycosylation patterns (Breitling *et al.* 2002, Figures 2 and 14).

The first step of the construction of recombinant LEXSY strains – cloning of the target gene into a LEXSY expression vector – is performed in *E. coli*. Cloning of the target gene into the multiple cloning sites provides essential non-translated flanking regions already optimized for the LEXSY host. All pLEXSY expression vectors bear compatible cloning sites for insertion/shuffling of expression cassettes and – in addition – a C' Hexa-Histidine tag for protein detection and affinity purification.

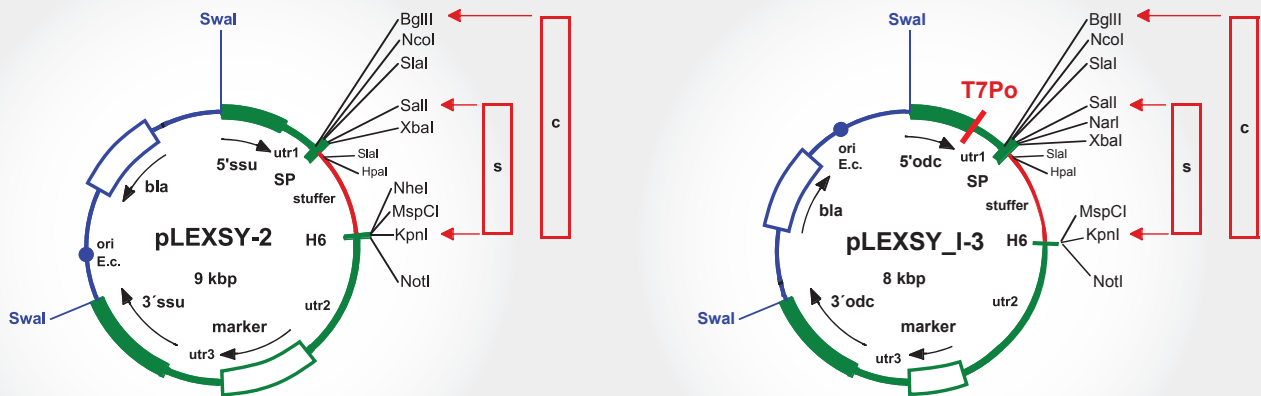


Figure 6

Maps of the integrative pLEXSY vector family for **constitutive** (left) or **inducible** (right) expression. 5' and 3' *ssu* or 5' and 3' *odc* are regions for homologous recombination into the host chromosome following linearization of the expression plasmid with *Swal*. Utr1, utr2 and utr3 are optimized non-translated gene-flanking regions providing the splicing signals for posttranscriptional mRNA processing for expression of target and marker genes in the LEXSY host. SP designates the signal peptide of *L. mexicana* secreted acid phosphatase LMSAP1 (Wiese *et al.*

1995) and H6 the hexa-Histidine stretch. Alternative cloning strategies result in cytosolic (c) or secretory (s) expression of the target proteins. In the constitutive system *sat* (streptothricine acetyltransferase), *neo* (aminoglycoside phosphotransferase), *hyg* (hygromycin phosphotransferase), or *ble* (bleomycin resistance) genes are available as selection markers for selection with the antibiotics LEXSY NTC, -Neo, -Hyg, or -Bleo, respectively. In the inducible system *blecherry*, *ble* and *neo* resistance genes are available for selection with LEXSY Bleo, or -Neo.

Table 2

In Vivo LEXSY configurations

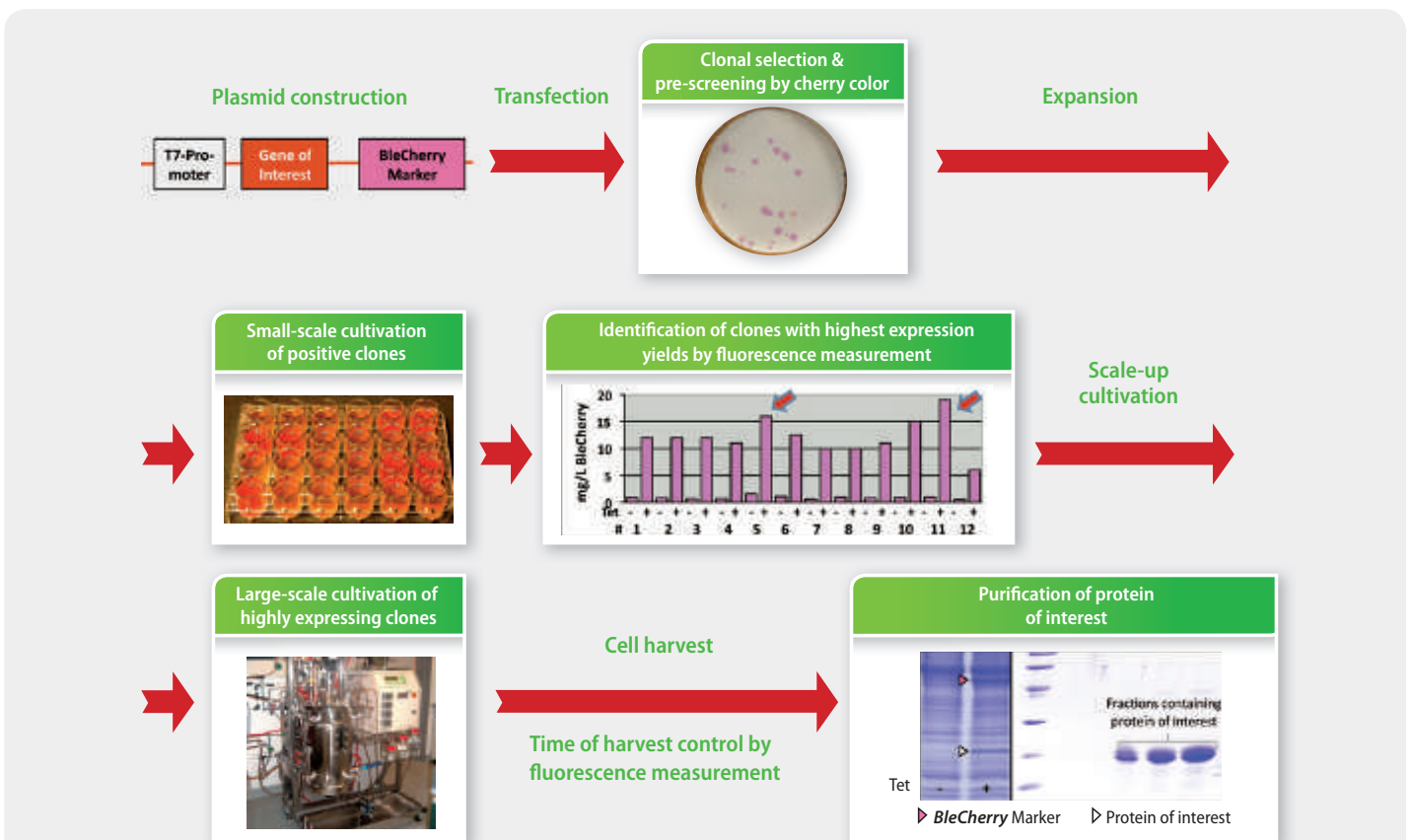
Parameters	Constitutive LEXSY LEXSYcon		Inducible LEXSY LEXSInduce	
	Intracellular	Secretory	Intracellular	Secretory
Typical cultivation time	2–4 days	2–4 days	1–3 days	1–3 days
Number of available selection markers	4 ^[1]	4 ^[1]	2 ^[2]	2 ^[2]

[1] 4 alternative selection antibiotics available (LEXSY NTC, LEXSY Hygro, LEXSY Bleo, LEXSY Neo) – Page 13

[2] 2 alternative selection antibiotics available (LEXSY Bleo, LEXSY Neo)

Furthermore, the inducible LEXSY is available as integrative or episomal version. In the **integrative** version the expression cassette is stably integrated into the chromosomal ornithin decarboxylase (*odc*) locus whereas the **episomal** version makes use of amplification and oligomerisation of expression plasmids maintained extrachromosomally as self-replicating episomes (Kushnir *et al.* 2011).

Finally, the inducible configuration **pLEXSY_I-blecherry** enables efficient screening of high expression clones and online monitoring of induction using Cherry-fluorescence (Figure 7). This was achieved by fusion of the *ble* resistance and *cherry* fluorescence genes.

**Figure 7**

Inducible protein expression with **pLEXSY_I-blecherry** architecture employing coupled expression of target and BleCherry proteins. **Row 1:** LEXSY expression plasmid is constructed by insertion of the gene of interest into the pLEXSY_I-blecherry expression vector (Cat. No. EGE-243 or EGE-251). Following transfection of LEXSY host T7-TR, cells are spread onto nitrocellulose membranes covering selective LEXSY BHI Agar and incubated for ca. 7 days at 26°C. After appearance of recombinant colonies the membrane is transferred onto a fresh LEXSY BHI Agar plate containing the inducer tetracycline and incubated for 1–2 additional days. Recombinant clones are pre-screened by cherry

color in daylight. Most intense cherry-colored colonies are expanded by small-scale cultivation in suspension for further evaluation. **Row 2:** Clones with the highest expression yields are identified in multi well plates by fluorescence measurement of samples of the cultures 48 h post induction. Most productive clones are expanded for upscale. **Row 3:** Large-scale fermentation (10–30 L scale) is performed for purification of large amounts of proteins. The optimal time of harvest is determined by online fluorescence measurements of culture samples. At the optimal time point the cells are harvested for downstream processing.

IN VIVO LEXSY PRODUCTS

For getting started with *In Vivo* LEXSY, Expression Kits are available that contain all components for construction of expression strains and setup of expression evaluation (Figure 8).

expression vector
for intracellular or secretory expression, four markers available

LEXSY primers
sequencing and diagnostic primer pairs

LEXSY antibiotic
for selection of recombinant strains

LEXSY medium
all components for 1 litre of growth medium

LEXSY host
glycerol stocks

Figure 8
The **constitutive LEXSY Expression Kits** contain LEXSY host strain *L.tarentolae* P10, pLEXSY-2 expression vector, all components for preparation of 1 L of medium including selective antibiotic, primer sets for insert sequencing and diagnostic PCR and a detailed and easy-to-follow manual.

The **inducible LEXSY Expression Kits** contain instead LEXSY host strain T7-TR expressing T7 RNA polymerase and TET repressor and the pLEXSY_I vector. In addition, all single components as well as auxiliary products are available separately.

The **constitutive LEXSY Expression Kits** are available with four alternative selection markers (LEXSY NTC, -Neo, -Hyg, or -Bleo selection). The **inducible LEXSY Expression Kits** are available with three alternative selection marker genes (*blecherry*, *ble*, or *neo*) for selection with the antibiotics LEXSY Bleo, or -Neo.

LEXSY EXPRESSION KITS

Product	Cat. No.	Amount	Price (EUR)
LEXSYcon2 Expression Kit for constitutive protein expression, contains vector pLEXSY-sat2 or pLEXSY-neo2 or pLEXSY-hyg2 or pLEXSY-ble2	EGE-1300sat EGE-1300neo EGE-1300hyg EGE-1300ble	1 Kit	960,-
LEXSInduce3 Expression Kit for inducible protein expression from integrative constructs, contains vector pLEXSY_I-blecherry3 or pLEXSY_I-ble3 or pLEXSY_I-neo 3	EGE-1410blecherry EGE-1410ble EGE-1410neo	1 Kit	2.250,-
LEXSInduce4 Expression Kit for inducible protein expression from episomal constructs, contains vector pLEXSY_IE-blecherry4	EGE-1420blecherry	1 Kit	2.250,-

Each Kit contains the expression vector of choice indicated in the product name. The inducible expression kits contain in addition a control vector with the *egfp* gene inserted into the expression site. For upgrading of the expression kits all LEXSY expression vectors are available also separately. The cloning sites of all pLEXSY vectors are compatible (Figure 6). This enables convenient transfer of target genes between the LEXSY configurations for expression optimization.

LEXSY EXPRESSION VECTORS

Product	Cat. No.	Amount	Price (EUR)
pLEXSY-ble2 integrative constitutive expression vector antibiotic selection of transfectants with LEXSY Bleo	EGE-231	5 µg	480,-
pLEXSY-hyg2 integrative constitutive expression vector antibiotic selection of transfectants with LEXSY Hygro	EGE-232	5 µg	480,-
pLEXSY-neo2 integrative constitutive expression vector antibiotic selection of transfectants with LEXSY Neo	EGE-233	5 µg	480,-
pLEXSY-sat2 integrative constitutive expression vector antibiotic selection of transfectants with LEXSY NTC	EGE-234	5 µg	480,-
pLEXSY_I-blecherry3 integrative inducible expression vector antibiotic selection of transfectants with LEXSY Bleo, expression monitoring with Cherry fluorescence	EGE-243	5 µg	480,-
pLEXSY_I-ble3 integrative inducible expression vector antibiotic selection of transfectants with LEXSY Bleo	EGE-244	5 µg	480,-
pLEXSY_I-neo 3 integrative inducible expression vector antibiotic selection of transfectants with LEXSY Neo	EGE-245	5 µg	480,-
pLEXSY_IE-blecherry4 episomal inducible expression vector antibiotic selection of transfectants with LEXSY Bleo, expression monitoring with Cherry fluorescence	EGE-255	5 µg	480,-

LEXSY CONTROL VECTORS

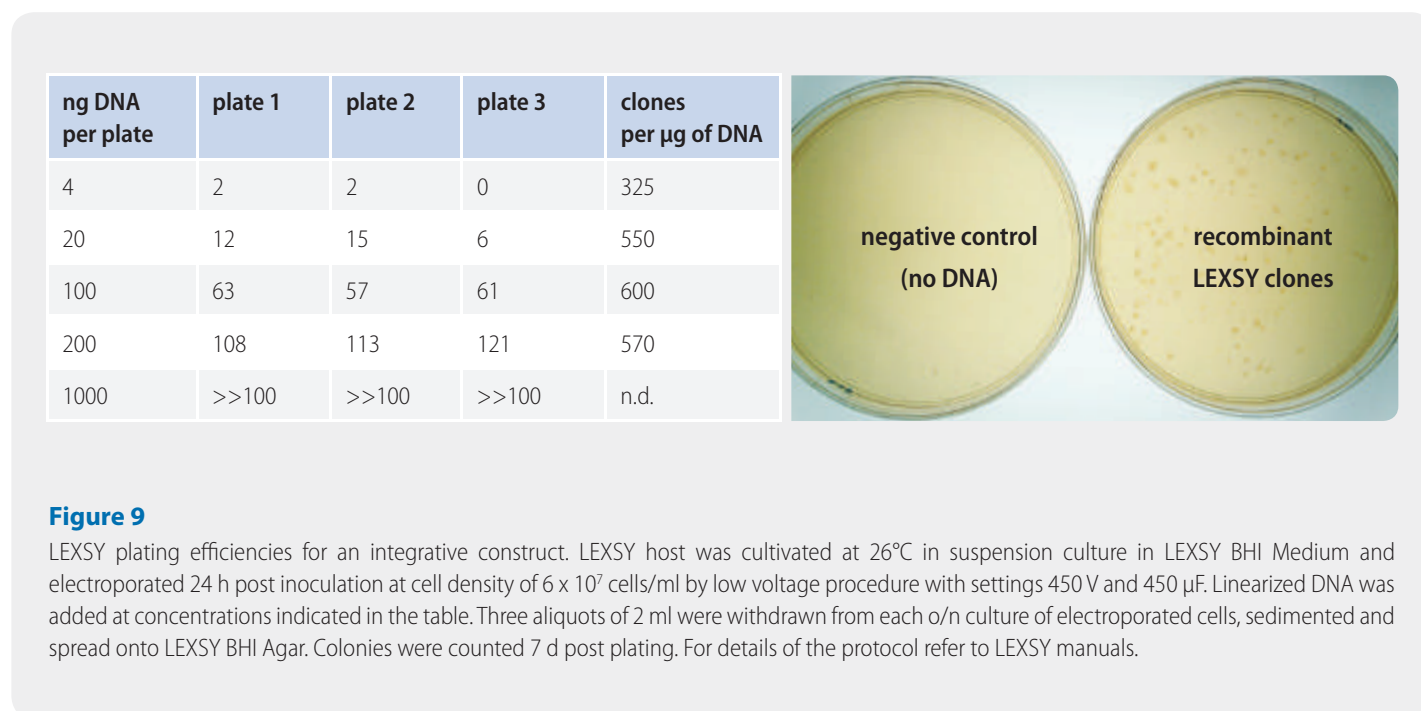
Product	Cat. No.	Amount	Price (EUR)
pLEXSY-egfp-sat2 integrative constitutive control vector with egfp gene antibiotic selection of transfectants with LEXSY NTC, expression monitoring with EGFP fluorescence	EGE-235	5 µg	480,-
pLEXSY-cherry-sat2 integrative constitutive control vector with cherry gene antibiotic selection of transfectants with LEXSY NTC, expression monitoring with Cherry fluorescence	EGE-236	5 µg	480,-
pLEXSY-red-sat2 integrative constitutive control vector with Ds red gene antibiotic selection of transfectants with LEXSY NTC, expression monitoring with Ds red fluorescence	EGE-237	5 µg	480,-
pLEXSY_I-egfp-blecherry3 integrative inducible control vector with egfp gene antibiotic selection of transfectants with LEXSY Bleo, expression monitoring with EGFP and Cherry fluorescence	EGE-246	5 µg	480,-
pLEXSY_I-egfp-ble3 integrative inducible control vector with egfp gene antibiotic selection of transfectants with LEXSY Bleo, expression monitoring with EGFP fluorescence	EGE-247	5 µg	480,-
pLEXSY_I-egfp-neo3 integrative inducible control vector with egfp gene antibiotic selection of transfectants with LEXSY Neo, expression monitoring with EGFP fluorescence	EGE-248	5 µg	480,-

Once constructed, the expression plasmids are used for transfection of the LEXSY host strains by electroporation. Following electroporation, recombinant strains are selected either polyclonally or clonally. Polyclonal selection results from addition of selection antibiotic to the cell suspension whereas clonal selection is achieved by plating of cells onto solid selection media. For convenience **LEXSY Plating Kits** were developed that contain all components required to set up clonal selection. The three different kit formats differ by auxiliary components dependent on preferences of customer laboratories.

LEXSY PLATING KITS

Product	Cat. No.	Amount	Price (EUR)
LEXSY Plating Kit comfort components for solid medium, LEXSY BHI- and fetal-calf-serum-based, with nitrocellulose membranes, spatula, dishes & serological pipettes	ML-451	for 40 plates	800,-
LEXSY Plating Kit core components for solid medium, LEXSY BHI- and fetal-calf-serum-based, without nitrocellulose membranes, spatula, dishes & serological pipettes	ML-452	for 40 plates	650,-
LEXSY Plating Kit basic components for solid medium, LEXSY BHI-based, without fetal-calf-serum, nitrocellulose membranes, spatula, dishes & serological pipettes	ML-453	for 40 plates	630,-

The plating kits provide components proven to ensure high efficiency of colony formation following plating of transfected LEXSY cells. Figure 9 shows typical plating efficiencies over a broad range of transforming DNA concentrations.



Selection of recombinant LEXSY strains is performed with antibiotics used also for other eukaryotic hosts. Jena Bioscience offers **LEXSY Selection Antibiotics** which are evaluated for efficient selection of recombinant LEXSY strains and are provided as powder as well as sterile ready to go 1.000x stock solutions.

LEXSY SELECTION ANTIBIOTICS

Product	Cat. No.	Amount	Price (EUR)
Nourseothricin (NTC) sterile ready to go 1.000x stock solution, 100 mg/ml	AB-101S	1 ml	40,-
	AB-101L	5 ml	160,-
	AB-101-10ML	10 ml	300,-
	AB-101-50ML	50 ml	1.200,-
Nourseothricin (NTC) powder (non-sterile)	AB-102L	1 g	178,-
	AB-102XL	5 g	870,-
	AB-102-25G	25 g	3.525,-
	AB-102-100G	100 g	12.350,-
LEXSY Bleo sterile ready to go 1.000x stock solution, 100 mg/ml	AB103S	1 ml	80,-
	AB-103L	5 ml	320,-
LEXSY Hygro sterile ready to go 1.000x stock solution, 100 mg/ml	AB-104S	1 ml	80,-
	AB-104L	5 ml	320,-
LEXSY Neo sterile ready to go 1.000x stock solution, 50 mg/ml	AB-105S	1 ml	40,-
	AB-105L	5 ml	160,-



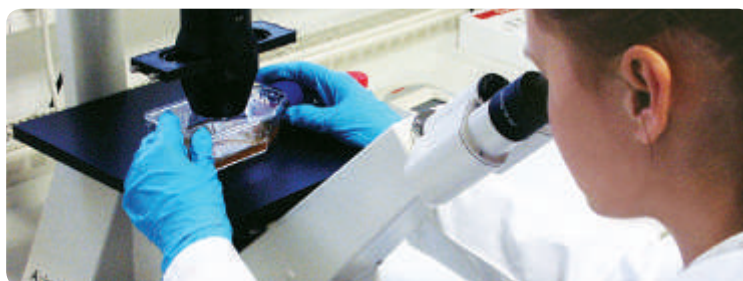
For optimal selection LEXSY NTC, LEXSY Bleo and LEXSY Hygro are used at 100 µg/ml and LEXSY Neo at 50 µg/ml final concentrations in the cultivation medium.

LEXSY suspension cultures are grown in complex or in synthetic media. For routine cultivations, transfection, cryoconservation and expression evaluation Complex **LEXSY BHI** Cultivation Media are used, based on brain and heart extracts. For cultivation in animal-free media Jena Bioscience offers **LEXSY YS** media based on yeast and soy extracts. In both types of complex media cell densities up to 5×10^8 cells/ml are reached in agitated laboratory cultivations.

COMPLEX LEXSY CULTIVATION MEDIA

Product	Cat. No.	Amount	Price (EUR)
LEXSY BHI - Liquid Media Kit sterile, brain-heart-infusion based medium, recommended for strain maintenance, electroporation, expression evaluation and cryoconservation	ML-411S	1 L	90,-
	ML-411L	5 L	360,-
	ML-412S	for 1 L	45,-
LEXSY BHI - Powder Media Kit Brain-heart-infusion based medium, recommended for strain maintenance, electroporation, expression evaluation and cryoconservation	ML-412L	for 5 L	180,-
	ML-412XL	for 10 L	350,-
	ML-412XXL	for 50 L	1400,-
LEXSY YS - Liquid Media Kit sterile, yeast-soybean based, casein-free medium medium free of animal components	ML-431S	1 L	100,-
	ML-431L	5 L	400,-
	ML-432S	for 1 L	50,-
LEXSY YS - Powder Media Kit yeast-soybean based, casein-free for medium free of animal components	ML-432L	for 5 L	200,-
	ML-432XL	for 10 L	375,-
	ML-432XXL	for 50 L	1500,-

If cultivation of LEXSY strains is required in protein-free defined media, Synthetic LEXSY Cultivation Media are available. They are optimized for high cell densities up to 3×10^8 cells/ml in agitated laboratory cultivations.



SYNTHETIC LEXSY CULTIVATION MEDIA

Product	Cat. No.	Amount	Price (EUR)
Synthetic LEXSY Medium - liquid, ready-to-grow, sterile, contains Hemin and Pen-Strep, shelf life 2 weeks	ML-103S	1 L	150,-
	ML-103L	5 L	600,-
Synthetic LEXSY - Liquid Media Kit sterile, with Hemin and Pen-Strep stock solutions, shelf life 6 months	ML-107S	1 L	150,-
	ML-107L	5 L	600,-

All LEXSY Cultivation Media Kits contain ready-to-go stock solutions of Hemin and PenStrep, which must be added before use. These additives are also available separately.



ADDITIVES FOR LEXSY CULTIVATION MEDIA

Product	Cat. No.	Amount	Price (EUR)
Hemin (porcine) sterile 500x stock solution in 50% triethanolamine	ML-108S	2 ml (for 1 L)	10,-
	ML- 108L	10 ml (for 5 L)	40,-
	ML-108XL	20 ml (for 10 L)	75,-
	ML-108XXL	100 ml (for 50 L)	300,-
Pen-Strep sterile 200x stock solution of penicillin and streptomycin	ML-105S	5 ml (for 1 L)	10,-
	ML-105L	25 ml (for 5 L)	40,-
	ML-105XL	50 ml (for 10 L)	75,-
	ML-105XXL	250 ml (for 50 L)	300,-

Hemin is essential for growth of LEXSY cultures. Addition of Pen-Strep prevents potential bacterial contaminations. Following addition of these components the media are stable for two weeks. If the completed media are to be used after this period, appropriate amounts of additives have to be re-added.

In Vitro LEXSY

Cell-free expression has become a powerful method for production of recombinant proteins and plays a central role in a wide variety of applications such as functional analysis and biochemical characterization of proteins and protein interactions, investigation of protein translation mechanisms, protein engineering, *in vitro* evolution, and structural biology (Katzen *et al.* 2005). Its multiplexed format can be used for production of protein arrays for drug screening and diagnostics (He *et al.* 2007).

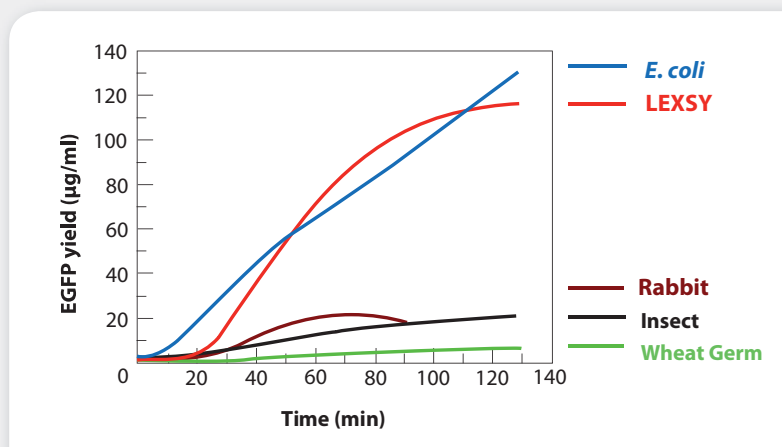
The main advantages of cell-free protein expression are its rapidity of only few hours and its independence of living host-organisms. These features enable very fast generation of results and greatly alleviate typical *in vivo* expression problems caused by toxicity and/or degradation of the protein of interest.

Our **In Vitro LEXSY Translation System** is a NEW, rapid, convenient, flexible and cost-efficient tool for production of recombinant proteins from DNA templates in a single-tube reaction based on the cell extract of the protozoan *Leishmania tarentolae* (Mureev *et al.* 2009, Kovtun *et al.* 2010 & 2011).

In contrast to *E. coli in vitro* translation, LEXSY contains chaperones for correct folding of proteins of higher eukaryotes (Kovtun *et al.* 2010). Further, compared to insect, rabbit and wheat germ systems, LEXSY yielded significant higher expression levels (Figure 10). Finally, our *In Vitro* LEXSY Translation System allows efficient suppression of background translation that is often required in other cell-free systems. A simple anti-splice leader oligonucleotide blocks translation of endogenous mRNA.

Figure 10

Coupled transcription-translation of PCR generated EGFP template in LEXSY compared to other commercially available *in vitro* translation systems. The EGFP ORF was amplified by overlap-extension PCR and fused individually with the translational leaders according to the instructions of the cell-free systems manufactures. For details refer to Mureev *et al.* 2009.



Dependent on the way of template preparation two principle versions of *In Vitro* LEXSY are available, that are plasmid based or PCR based versions (Figure 11). The **Plasmid-based *In Vitro* LEXSY Translation** is recommended for high-yield and/or large volume reactions. It is also recommended for open reading frames larger than 2500 bp and requires sub-cloning of the target ORF into the pLEXSY_*invitro* vector.

The **PCR-based *In Vitro* LEXSY Translation** is rapid and flexible. It utilizes PCR-mediated fusion of the target ORF to a T7 promoter and leader sequence by overlap extension (OE-PCR) technique and does not require any cloning step. Therefore, this approach allows rapid generation of large protein libraries directly from unpurified PCR products.

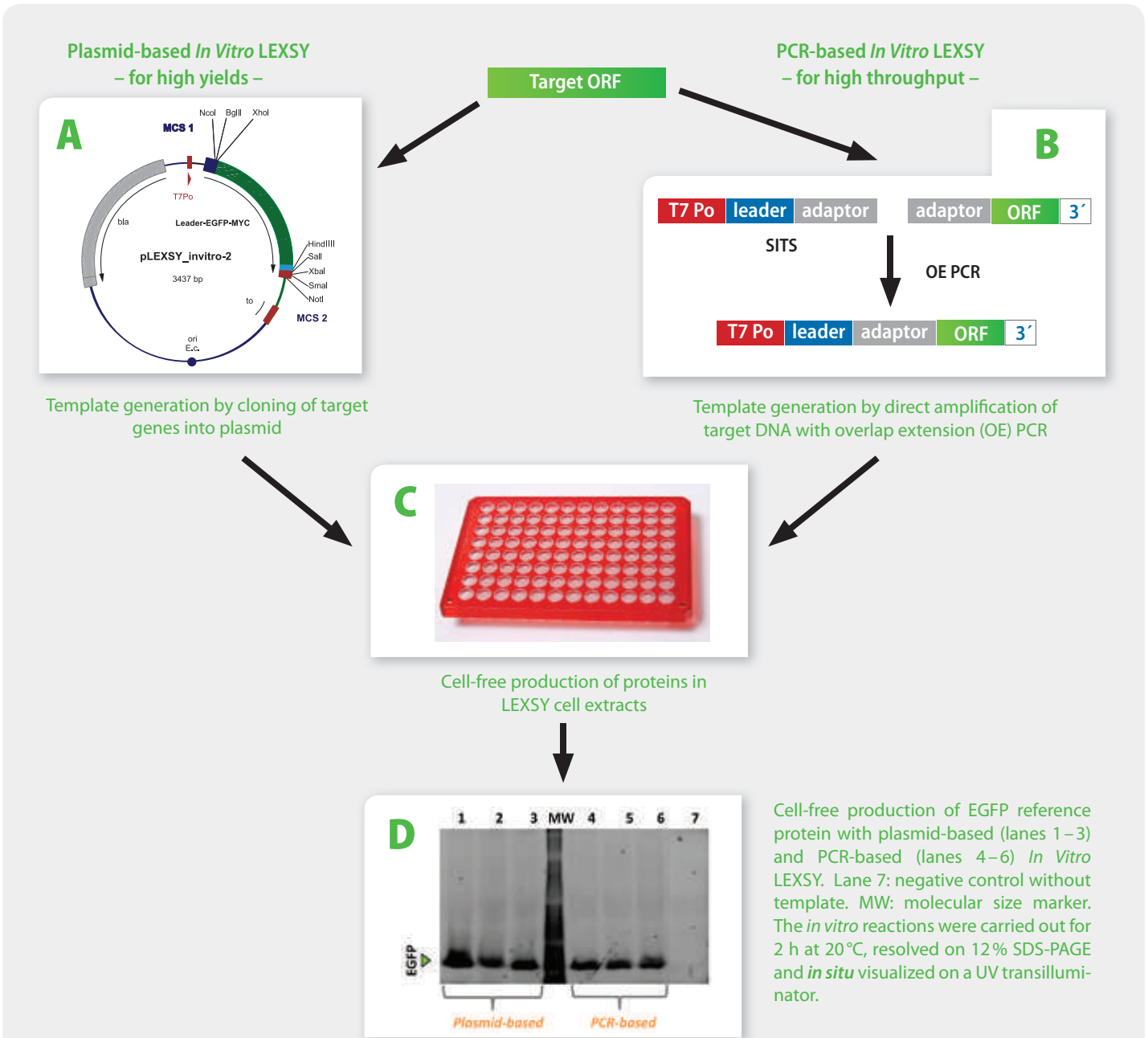


Figure 11

Flow chart of the two principle versions of *In Vitro* LEXSY. DNA templates for *in vitro* translation can be generated either by cloning into pLEXSY_*invitro* vector (A) or by a two step-PCR amplification procedure (B). The DNA templates are transcribed and translated in a single-tube reaction with LEXSY cell extracts (C). The *in vitro* produced proteins can be detected by fluorescence scanning in case of EGFP fusion proteins (D), by Western blotting or other techniques. Abbreviations: T7Po = T7 RNA polymerase promoter, MCS1 & MCS2 = multiple cloning sites for replacement of vector-borne EGFP control gene and for N' or C'-in-frame

fusions to the EGFP gene resp., Leader = 63 nt poly-TTTTA sequence for generation of unstructured 5' end of template mRNA, Adaptor = 24 nt DNA sequence (encoding KDIKHVSE peptide) for overlap extension PCR (OE PCR), MYC = Myc-tag, to = T7 transcription terminator, bla = ampicillin resistance gene, ori E.c. = replication origin for *Escherichia coli*, SITS = species independent translation sequence consisting of T7Po + leader- + adaptor sequences. For more details, refer to the *In Vitro* LEXSY manuals.

IN VITRO LEXSY PRODUCTS

Product	Cat. No.	Amount	Price (EUR)
In Vitro LEXSY Translation Kit 15 reactions for plasmid based cell-free protein synthesis	EGE-2002-15	1 Kit	225,-
In Vitro LEXSY Translation Kit 15 reactions for PCR based cell-free protein synthesis	EGE-2010-15	1 Kit	225,-
In Vitro LEXSY Translation Cell Extract 15 reactions for cell-free protein synthesis	EGE-260	250 µl	150,-

Figure 12 shows examples of proteins produced with *In Vitro* LEXSY Translation Kit. Enhanced Green Fluorescent Protein (EGFP) and its fusion proteins can conveniently be detected directly in SDS-PAGE gels by *in situ* fluorescence scanning (A) or isolated by affinity chromatography on a

GFP binding matrix for subsequent detection by conventional Coomassie staining (B). For non-fluorescent protein targets Western blotting can be used for visualization.

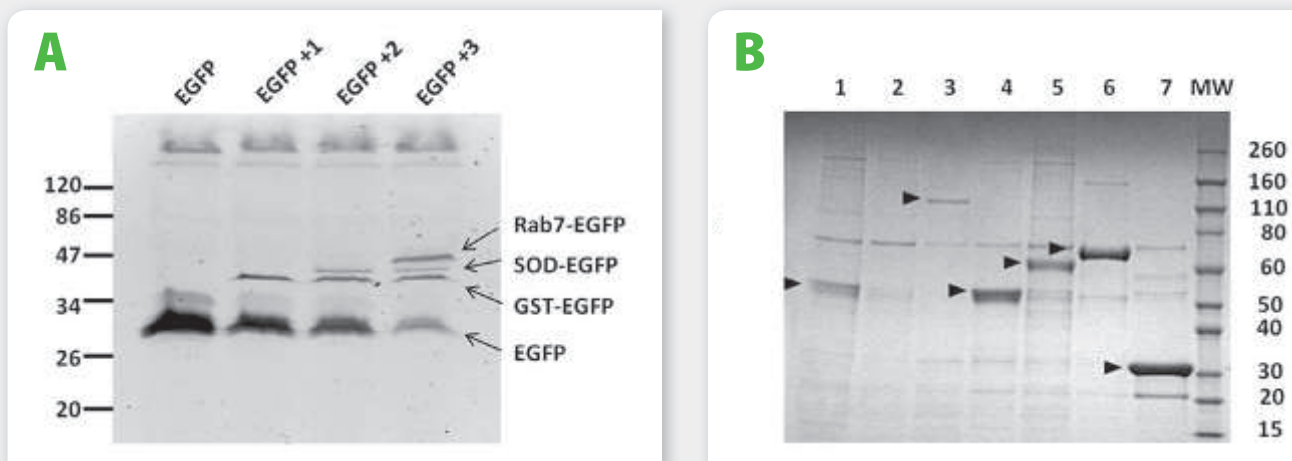


Figure 12

Cell-free expression of EGFP fusion proteins with *In Vitro* LEXSY.

A: Simultaneous *in vitro* co-expression of four proteins in a single extract (EGFP and three EGFP fusion proteins, Rab7 = Ras-related small GTPase7, SOD = Cu/Zn superoxide dismutase, GST = Glutathione-S-Transferase). The *in vitro* reactions were resolved on SDS-PAGE and the products detected by *in situ* fluorescence (Adapted from Mureev *et al.* 2009). All proteins are present at similar yields indicating suitability of the system for production of heteromeric protein complexes.

B: Purification of *in vitro* produced EGFP fusion proteins. 1=Rab8 (Ras-related small GTPase8)-EGFP, 2=Cog5 (Complex of Golgi5)-EGFP, 3=Cog8 (Complex of Golgi8)-EGFP, 4=Rab1 (Ras-related small GTPase1)-EGFP, 5=RabGGTβ (Geranyl-Geranyl Transferase β)-EGFP, 6=MBP (Maltose Binding Protein)-EGFP, 7=EGFP. *In vitro* reactions and GFP matrix purification were performed as described in the *In Vitro* LEXSY user manual. The purified target proteins were resolved by SDS-PAGE and Coomassie stained. Right lane, molecular size protein marker (kDa). Adapted from Kovtun *et al.* 2010.

Applications and selected examples

Solubility and functionality of recombinant proteins

Incorrect folding and insufficient solubility – resulting in compromised biological activity – are the major shortcomings of prokaryotic protein production systems (Zerbs *et al.* 2009, Makrides 1996). Due to LEXSY's fully eukaryotic protein synthesis/folding/modification machinery most proteins of higher organisms expressed in LEXSY are correctly folded and processed and therefore, are obtained in a fully functional state (Table 3).

Table 3

Selected examples of LEXSY-expressed proteins with full biologic activity

Protein	Localisation	Origin	Reference
Erythropoietin	secreted	human	Breitling <i>et al.</i> 2002
Surface Antigen 1 & 2	secreted	<i>Toxoplasma gondii</i>	Ebert <i>et al.</i> 2007 not publ.
Proprotein Convertase 4	secreted	rat	Basak <i>et al.</i> 2008
Laminin-332	secreted	human	Phan <i>et al.</i> 2009
Cu/Zn superoxide dismutase	cytosolic	human	Gazdag <i>et al.</i> 2010
Tissue Plasminogen Activator	secreted	human	Hemayatkar <i>et al.</i> 2010
N-Acetyl Serotonin Methyl Transferase (ASMT)	cytosolic	human	Ben-Abdallah <i>et al.</i> 2010
Hydroxynitrile Lyase (MeHNL)	cytosolic	cassava plant	Dadashipour <i>et al.</i> 2011
Coagulation factor VII	cytosolic	human	Mirzaahmadi <i>et al.</i> 2011

Proprotein Convertase 4 (PC4) is a Ca⁺⁺ dependent mammalian subtilase (proprotein convertase subtilisin kexin PCSK), which plays a key role in fertilization. Recombinant PC4 could previously be generated only in extremely poor yields using rat GH4C1 or insect Hi5 cells. Using LEXSY, full length and truncated forms of this enzyme were expressed, and soluble, active protein was purified in high yields. Biochemical analysis demonstrated high specific activity, which was superior to PC4 obtained from GH4C1 or Hi5 cells. The substrate specificity found confirmed its biological role and allowed inhibitor design for therapeutic and clinical applications (Basak *et al.* 2008).

Tissue Plasminogen activator (t-PA) is a serine protease with 17 disulfide bonds that need to be correctly formed for the enzyme's biological activity. Different expression systems (yeast, insect cells, transgenic plants) have been tried for production of recombinant human t-PA but yielded unsatisfactory results due to poor secretion, improper folding and hyper-glycosylation. At present, human t-PA is mainly produced at large scale in Chinese hamster ovary (CHO) cells, however, uncontrollable variability in mammalian cell culture processes make development of expressing cell lines laborious and time-consuming. Moreover, high costs of cell culture media and contamination with viruses and prions are additional problems associated with the use of mammalian cells. LEXSY in contrast alleviates these problems and yielded correctly folded t-PA with full biological active (Hemayatkar *et al.* 2010).

N-Acetyl Serotonin Methyl Transferase (ASMT) is the last enzyme in the melatonin synthesis pathway and possibly involved in autism-related disorders. Attempts to produce human ASMT in recombinant *E. coli* yielded only insoluble and heavily degraded material. In contrast, recombinant ASMT was produced in soluble, active form and purified in milligram amounts when expressed in LEXSY (Ben-Abdallah *et al.* 2010).

Hydroxynitrile lyase from cassava plant *Manihot esculenta* (MeHNL) is involved in cyanogenesis in this higher plant. Dadashipour *et al.* (2011) compared expression and features of MeHNL in *E. coli*, *Pichia pastoris*, *Leishmania tarentolae* and two cell-free translation systems. While the wild type enzyme formed inclusion bodies when expressed in *E. coli* it could be expressed in soluble form in *L. tarentolae* and *Pichia pastoris*. Moreover, the wild-type and mutant enzyme showed high activity for both proteins (up to 10 U/ml) in the eukaryotic host *L. tarentolae* and *Pichia pastoris*, while those of *E. coli* exhibited about 1 and 15 U/ml, respectively.

Mammalian-type glycosylation

Glycosylation is a major posttranslational modification of a large variety of secreted and membrane proteins. It occurs in more than 50% of all human proteins (Rich *et al.* 2009) and is often a pivotal factor for folding, function and stability. Glycoproteins account for about 60% of the therapeutic protein market with annual growth rates of >20% (Gerngross 2004). Due to the absence of glycosylation pathways in prokaryotes, recombinant glycosylated proteins cannot be produced in e.g. bacteria. Further, glycosylation in most alternative eukaryotic expression hosts such as yeast and insect differs largely from the desired mammalian-type glycosylation (Figure 2B). Despite several improvements including glycoengineering have been reported for these two systems, an expression system with adequate mammalian-type glycosylation is still highly desirable for protein expression in research, diagnostics and pharmaceutical applications.

Glycosylation in LEXSY was thoroughly investigated using recombinant **human erythropoietin (EPO)** as a model. EPO expressed in LEXSY was shown to be efficiently secreted into the culture medium, natively processed at the N-terminus and fully biologically active. Glycosylation analysis revealed two glycans, a complex mammalian-type biantennary oligosaccharide and the $\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$ core structure (Figure 13). LEXSY is thus the first biotechnologically useful unicellular eukaryotic system producing biantennary fully galactosylated, core- α -1,6-fucosylated N-glycans. In addition, the N-glycosylation pattern was exceptionally homogenous consisting of only two defined glycoforms, while glycoproteins from other eukaryotes are typically heterogenous multi-glycoform populations (Figure 13 A & B). LEXSY-derived homogenous protein preparations are therefore expected to be prone to crystallization and subsequent structure determination.

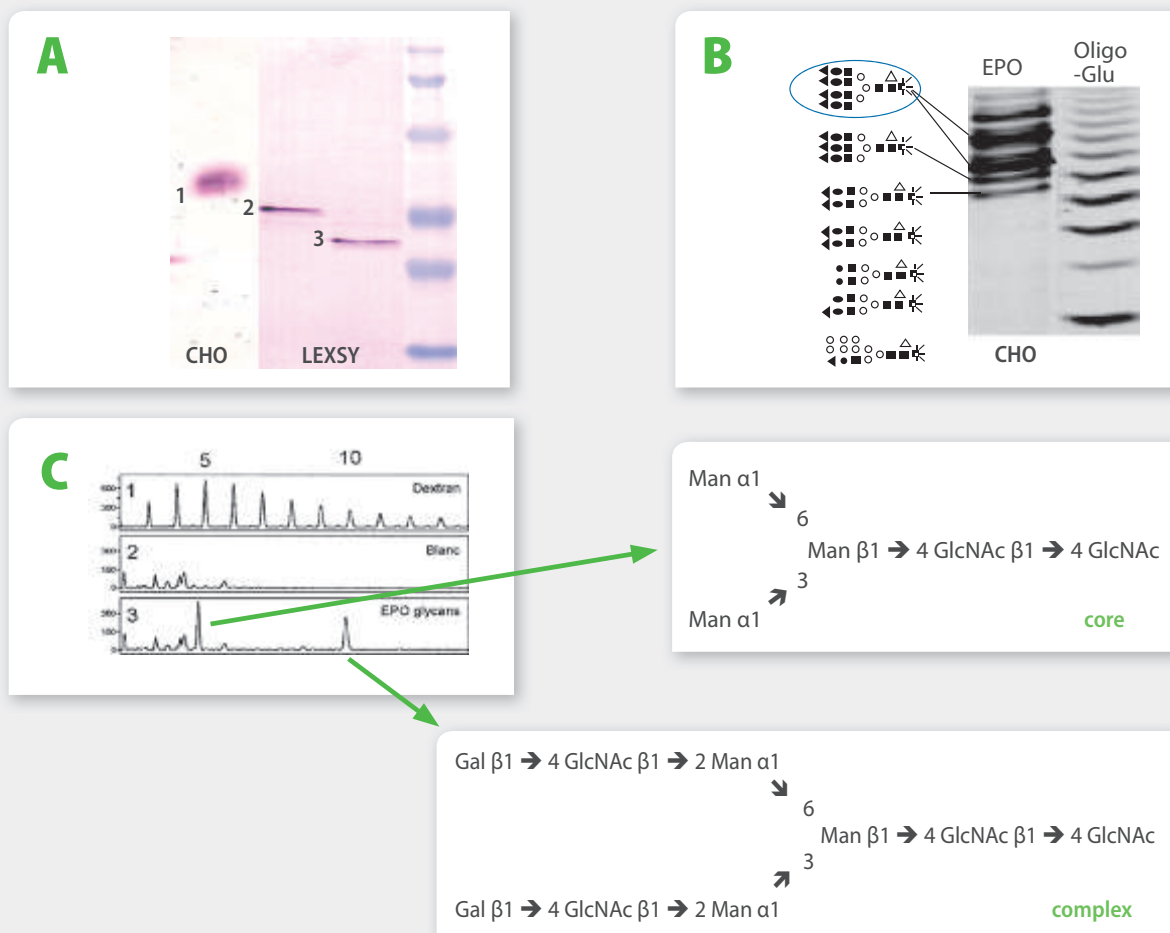


Figure 13

Analysis of recombinant human erythropoietin isolated from culture supernatants of a LEXSY expression strain.

A: Western blot of recombinant human EPO produced in CHO cells (1) and LEXSY secreted EPO before (2) and after (3) de-glycosylation with N-glycosidase F (PNG).

B: Electrophoretic resolution of heterogenous population of CHO-derived EPO. Glycan structures are depicted at the left.

C: Enzymatic resolution of complex and core glycan structures released from LEXSY-produced EPO (for details refer to Breitling *et al.* 2002).

Similar glycosylation profiles were also found in other LEXSY-produced proteins including human interferon- γ (IFN- γ) and host major surface protein GP63 suggesting this to be a common feature of all recombinant glycoproteins produced in LEXSY.

Expression of complex oligomeric proteins

Many proteins of higher organisms are oligomers consisting of more than one polypeptide chain, and recombinant production of these complexes in an active form often requires simultaneous co-expression of the individual polypeptides. LEXSY allows up to four different antibiotic selection markers to be used for expression of up to four different proteins simultaneously facilitating production of functional oligomers.

For example, LEXSY was employed to express human laminin-332 ($\alpha_3\beta_3\gamma_2$), a large heterotrimeric glycoprotein and essential component of epithelial basal lamina that promotes cell adhesion and migration (Phan *et al.* 2009) (Figure 14).

Alternatively, avoiding limitation by availability of selection markers *in vivo*, oligomeric proteins can be obtained using *In Vitro* LEXSY by co-expression of the respective polypeptides in the same extract (Figure 12A).

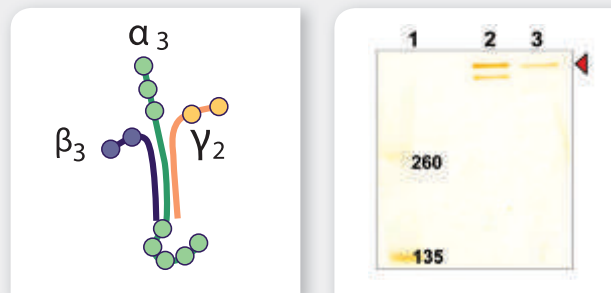


Figure 14

Model of heterotrimeric laminin-332 (left) and Western blot of purified 420 kDa laminin heterotrimer separated under non-reducing conditions. Lanes 1 molecular size marker (kDa), 2 laminin from 293-F cells (2 forms), 3 laminin from LEXSY (one defined form) after Phan *et al.* (2009).

Expression of recombinant antibodies

Recombinant production of antibodies with focus on monoclonal antibodies (MAbs) has become a challenging task due to the rapidly expanding pharmaceutical and diagnostic markets. Currently more than 20 MAbs are clinically approved and ca. 300 MAbs are under development in Clinical Phases I-III. The annual demand of the leading 9 MAbs was estimated to be more than 2.200 kg per year (Werner 2011).

LEXSY was evaluated for production of heavy and light chains of human IgG, single chain antibodies and Fc fusions. **Recombinant Fc fusions** were efficiently expressed in LEXSY, completely secreted to the culture medium and one-step affinity purified with Protein A sepharose with yields of ca. 10 mg/L. SDS PAGE analysis demonstrated that the proteins were secreted in the native configuration as dimers (Figure 15).

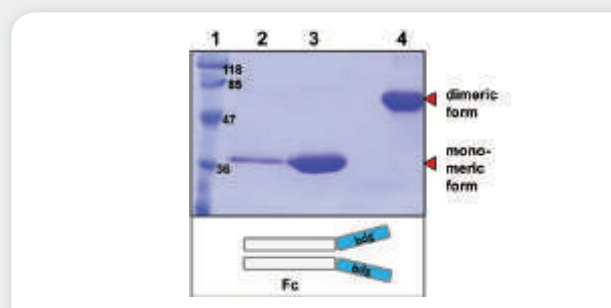


Figure 15

Purification of Fc fusion protein from LEXSY cultivation medium. Lane 1 molecular size marker, 2-3 Protein A sepharose-purified Fc fusion under reducing conditions, 4 dto. non-reducing conditions (JBS not published).

Structural biology: LEXSY proteins for NMR and X-ray crystallography

The applicability of LEXSY for structural biology was demonstrated by successful ^{15}N -HSQC NMR analysis of a 28 kDa ^{15}N -Val labeled protein purified from recombinant LEXSY strain grown in a synthetic LEXSY cultivation medium (Figure 16). All 18 Val residues of the *in vivo* labeled protein could be completely assigned in ^{15}N -HSQC NMR spectrum in full agreement with X-ray crystallography (Niculae *et al.* 2006).

Since *Leishmania tarentolae* is auxotrophic for 11 amino acids and can be grown in chemically defined media, multiple options for labeling strategies are available. Alternatively to chemically defined media labeling strategies in complex media were developed (Foldynová-Trantírková *et al.* 2009).

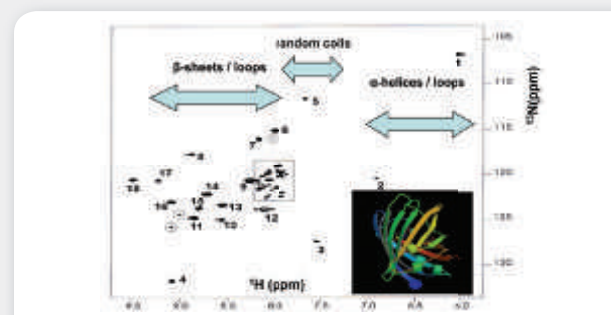


Figure 16

^{15}N -HSQC NMR analysis of ^{15}N -Val labeled EGFP purified from recombinant LEXSY strain. For detailed description refer to Niculae *et al.* (2006).

It was shown that LEXSY-expressed proteins can be subjected successfully to **crystallography** and **X-ray analysis**. The resolution of a new protein structure was achieved for LEXSY expressed hu Cu/Zn superoxide dismutase SOD1 (Figure 17).

In addition, the exceptionally homogeneous glycosylation pattern of LEXSY-produced proteins can be a remarkable advantage for structural analysis of glycoproteins (see also chapter Mammalian-type glycosylation).

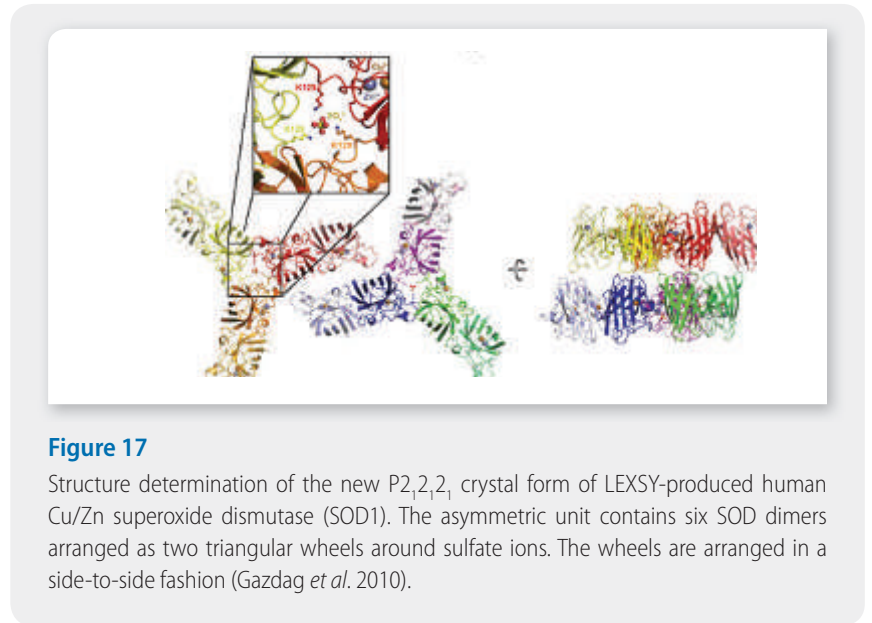


Figure 17

Structure determination of the new P2₁2₁2₁ crystal form of LEXSY-produced human Cu/Zn superoxide dismutase (SOD1). The asymmetric unit contains six SOD dimers arranged as two triangular wheels around sulfate ions. The wheels are arranged in a side-to-side fashion (Gazdag *et al.* 2010).

LEXSY in parasitology

Leishmania tarentolae is a close relative to pathogenic *Leishmania* species as well as to other pathogens such as Trypanosomes, *Plasmodium* and *Toxoplasma* (Figure 18). Due to this evolutionary proximity, the LEXSY technology is efficiently expressing parasite proteins with

- High yields
- Correct protein folding
- Native post-translational modifications

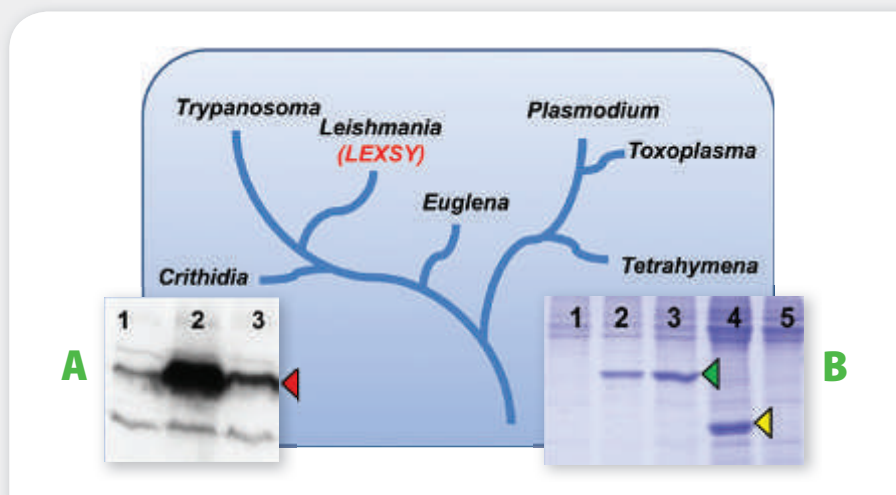


Figure 18

Leishmania tarentolae-based LEXSY is evolutionary closely related to a number of the most common parasites and was used for overexpression and purification of functional parasite proteins.

A: Western blot of 93 kDa J-binding protein (JBP1) of *Leishmania* sp. Lane 1 = host control, lane 2 = induced culture, lane 3 = non-induced culture (Courtesy of S. Vainio, The Netherlands Cancer Institute, Amsterdam).

B: Coomassie stain of immunoreactive surface proteins SAG1 (28 kDa) and SAG2 (15 kDa) of *Toxoplasma gondii*. Lanes 1 and 5 = host controls, lanes 2 and 3 = SAG1, lane 4 = SAG 2 secreted to the culture medium (Courtesy of M. Ebert, FZMB, Erfurt).

For more examples, refer to figure 19 A & D.

In addition, the expression vectors developed for LEXSY can be used for creation of transgenic strains of other *Leishmania* species including *L. amazonensis*, *L. donovani*, *L. infantum*, *L. major*, *L. mexicana* and also *Crithidia sp.* as well as the plant parasite *Phytomonas serpens* (Figure 19 B-C).

These features of LEXSY enable functional characterization of parasite proteins, investigation of parasite-host interactions, *in vivo* and *in vitro* screening of anti-leishmanial drugs and vaccine development.

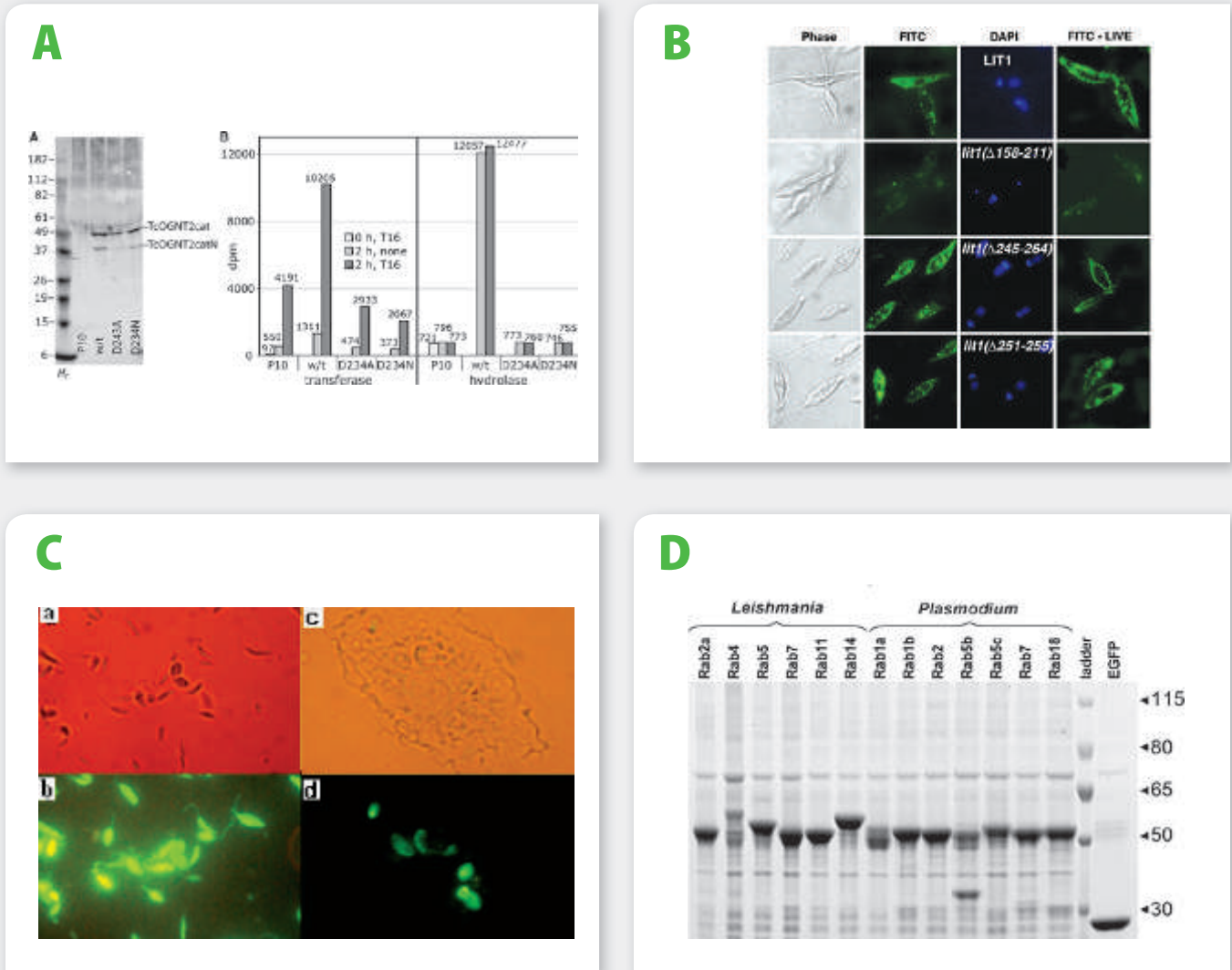


Figure 19

A: Expression and functional analysis of the catalytic domain of α -N-acetylglucosaminyltransferase from *Trypanosoma cruzi* (TcOGNT2cat) in LEXSY by Western blotting (left) and enzymatic activities (right). P10 = non-transfected host strain; wt = P10 expressing wild-type TcOGNT2cat; D234A and D234N = single point mutants (from Heise *et al.* 2009).

B: Subcellular localization of ferrous iron transporter LIT1 expressed in *L. amazonensis* $\Delta lit1$ promastigotes using pLEXSY constructs. Immunofluorescence demonstrated different targeting of wild type and mutant proteins to the plasma membrane. LIT1 immunofluorescence = green, parasite DNA = blue, FITC = anti-LIT1 IF on fixed/non-permeabilized promastigotes, FITC-LIVE = anti-LIT1 IF on live promastigotes (from Jacques *et al.* 2010).

C: EGFP imaging in *L. major* reporter strain stably transfected with pLEXSY-egfp construct by Epi-fluorescence microscopy of recombinant *L. major* promastigotes (left) and intracellular amastigotes in bone marrow-derived macrophages (right) (from Bolhassani *et al.* 2011).

D: Expression of protozoan RabGTPases originating from *L. tarentolae* or *P. falciparum* in PCR-based *In Vitro* LEXSY. Coomassie stained SDS-PAGE gel loaded with EGFP-Rab GTPases eluted from a GFP binding matrix. For details see *In Vitro* LEXSY manual (adapted from Kovtun *et al.* 2010).

References

- Basak *et al.* (2008) Recombinant proprotein convertase 4 (PC4) from *Leishmania tarentolae* expression system: Purification, biochemical study and inhibitor design. *Protein Expression and Purification* **60**:117.
- Ben-Abdallah *et al.* (2010) Production of soluble, active acetyl serotonin methyl transferase in *Leishmania tarentolae*. *Protein Expression and Purification* in press **75**:114.
- Bolhassani *et al.* (2011) Fluorescent *Leishmania* species: Development of stable GFP expression and its application for *in vitro* and *in vivo* studies. *Experimental Parasitology* **127**:637.
- Breitling *et al.* (2002) Non-pathogenic trypanosomatid protozoa as a platform for protein research and production. *Protein Expression and Purification* **25**:209.
- Dadashpour *et al.* (2011) Comparative expression of wild-type and highly soluble mutant His103Leu of hydroxynitrile lyase from *Manihot esculenta* in prokaryotic and eukaryotic expression systems. *Protein Expression and Purification* doi:10.1016/j.pep.2010.12.010.
- Dortay *et al.* (2010) A highly efficient pipeline for protein expression in *Leishmania tarentolae* using infrared fluorescence protein as marker. *Microbial Cell Factories* **9**:29.
- Foldynová-Trantírková *et al.* (2009) A Cost-effective Amino-acid-type Selective Isotope Labeling of Proteins Expressed in *Leishmania tarentolae*. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics* **26**:755.
- Fritsche *et al.* (2007) Characterization of growth behaviour of *Leishmania tarentolae* – a new expression system for recombinant proteins. *Journal of Basic Microbiology* **47**:384.
- Fritsche *et al.* (2008) Development of a defined medium for heterologous expression in *Leishmania tarentolae*. *Journal of Basic Microbiology* **48**:488.
- Gazdag *et al.* (2010) Purification and crystallization of human Cu/Zn superoxide dismutase recombinantly produced in the protozoan *Leishmania tarentolae*. *Acta Crystallographica* **F66**:871.
- Gerngross (2004) Advances in the production of human therapeutic proteins in yeasts and filamentous fungi. *Nature Biotechnology* **22**:1409.
- He *et al.* (2007) Arraying proteins by cell-free synthesis. *Biomolecular Engineering* **24**:375–380.
- Heise *et al.* (2009) Molecular analysis of a UDP-GlcNAc:polypeptide α -N-acetylglucosaminyl-transferase implicated in the initiation of mucin-type O-glycosylation in *Trypanosoma cruzi*. *Glycobiology* **19**:918.
- Hemayatkar *et al.* (2010) Increased expression of recombinant human tissue plasminogen activator in *Leishmania tarentolae*. *Biotechnology Journal* **5**:1198.
- Jacques *et al.* (2010) Functional characterization of LIT1, the *Leishmania amazonensis* ferrous iron transporter. *Molecular & Biochemical Parasitology* **170**:28.
- Katzen *et al.* (2005) The past, present and future of cell-free protein synthesis. *Trends in Biotechnology* **23**:150–156.
- Kovtun *et al.* (2010) Towards the Construction of Expressed Proteomes Using a *Leishmania tarentolae* Based Cell-Free Expression System. *PLOS one* **5**:e14388.
- Kovtun *et al.* (2011) *Leishmania* cell-free protein expression System. *Methods* **55**:58.
- Kushnir *et al.* (2005) Development of an inducible protein expression system based on the protozoan host *Leishmania tarentolae*. *Protein Expression and Purification* **42**:37.
- Kushnir *et al.* (2011) Artificial linear episome-based protein expression system for protozoan *Leishmania tarentolae*. *Molecular & Biochemical Parasitology* **176**:69.
- Lukeš *et al.* (2006) Translational initiation in *Leishmania tarentolae* and *Phytomonas serpens* (Kinetoplastida) is strongly influenced by pre-ATG triplet and its 5' sequence context. *Molecular & Biochemical Parasitology* **148**:125.
- Makrides (1996) Strategies for achieving high-level expression of genes in *Escherichia coli*. *Microbiol. Rev.* **60**:512.
- Mirzaahmadi *et al.* (2011) Expression of Recombinant Human Coagulation Factor VII by the Lizard *Leishmania* Expression System. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* doi:10.1155/2011/873874.
- Mureev *et al.* (2009) Species-independent translational leaders facilitate cell-free expression. *Nature Biotechnology* **27**:747.
- Niculae *et al.* (2006) Isotopic labeling of recombinant proteins expressed in the protozoan host *Leishmania tarentolae*. *Protein Expression and Purification* **48**:167.
- Phan *et al.* (2009) The production of recombinant human laminin-332 in a *Leishmania tarentolae* expression system. *Protein Expression and Purification* **68**:79.
- Rich *et al.* (2009) Emerging methods for the production of homogeneous human glycoproteins. *Nature Chemical Biology*. **5**:206.
- Sodoyer (2004) Expression Systems for the Production of Recombinant Pharmaceuticals. *Biodrugs* **18**:51.
- Soleimani *et al.* (2007) Expression of human tissue-type plasminogen activator (t-PA) in *Leishmania tarentolae*. *Biotechnology & Applied Biochemistry* **48**:55.
- Werner (2011) Monoclonal Antibodies versus Antibody Fragments/Protein Scaffolds. *4th Halle Conference on Recombinant Protein Production*, February 24th – 26th, 2011 Halle (Saale).
- Wiese *et al.* (1995) Ser/Thr-rich repetitive motifs as targets for phosphoglycan modifications in *Leishmania mexicana* secreted acid phosphatase. *EMBO Journal* **14**:1067.
- Zerbs *et al.* (2009) Bacterial systems for production of heterologous proteins. *Methods in Enzymology* **463**:149.

These papers can be downloaded from the Jena Bioscience Website:

www.jenabioscience.com







Dosage des protéines et peptides

D.2-D.25

Dosages colorimétriques	D.3-D.5
BC Assay	D.4
Coo Assay	D.5
Dosages Fluorimétriques	D.6-D.7
Fluoresceamine, AccuOrange	D.6
EpicoccoStab, OPA	D.7
Autres dosages de protéines	D.8
Préparation des échantillons pour dosage protéique	D.9
Réactifs de précipitation de protéines - PPR	D.10
Réactifs de précipitation de protéines - Carrez,	
Plaques, Kits enrichissement	D.11
Réactifs biochimiques pour dosage et détection des Protéines, Peptides et Acides Aminés	D.12-D.14
Coomassie	D.12
Dosages/dérivatisations à l'OPA fluorescent	D.13
Réactifs de dérivatisation pour les AA	D.13-D.14
Standards de Protéines	D.14
Instruments pour dosages de protéines	D.15
Analyse de protéines particulières	D.16-D.25
Quantification par MS	D.16
Détection des Glyco-, Phospho-, Lipo- Protéines	D.19
Dosage de protéines d'adhésion (Collagène, sGAG, Elastine)	D.23
Dosage d' Igs, Protéases	D.25

Analyse d'activité enzymatique I Protéases

D.26-D.42

Protéases	D.26-D.32
Protéases contaminantes, Caspases, MétalloProtéases, Rénine, Autres	
Enzymes Hydrolytiques	D.33-D.37
ATPases et GTPases, Acetylcholinestérase, Glycosidases, Phosphatases, Phosphodiesterases, Sphingomyelinases	
Oxydases	D.38-D.40
Catalases, Cytochrome P450, Glucose Oxydase, Horseradish Peroxidase (HRP, Lysil Oxydase, Monoamine Oxydase, Myelopéroxydase et SuperOxyde Dismutase, Xanthine Oxydase, Autres Oxydases	
Déshydrogénases	D.41
Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase (G6PD), Lactate Déshydrogénase (LDH), Autres	
Polymérases	D.41
Protéines Kinases, Transférases	D.42

Electrophorèse de protéines

D.43

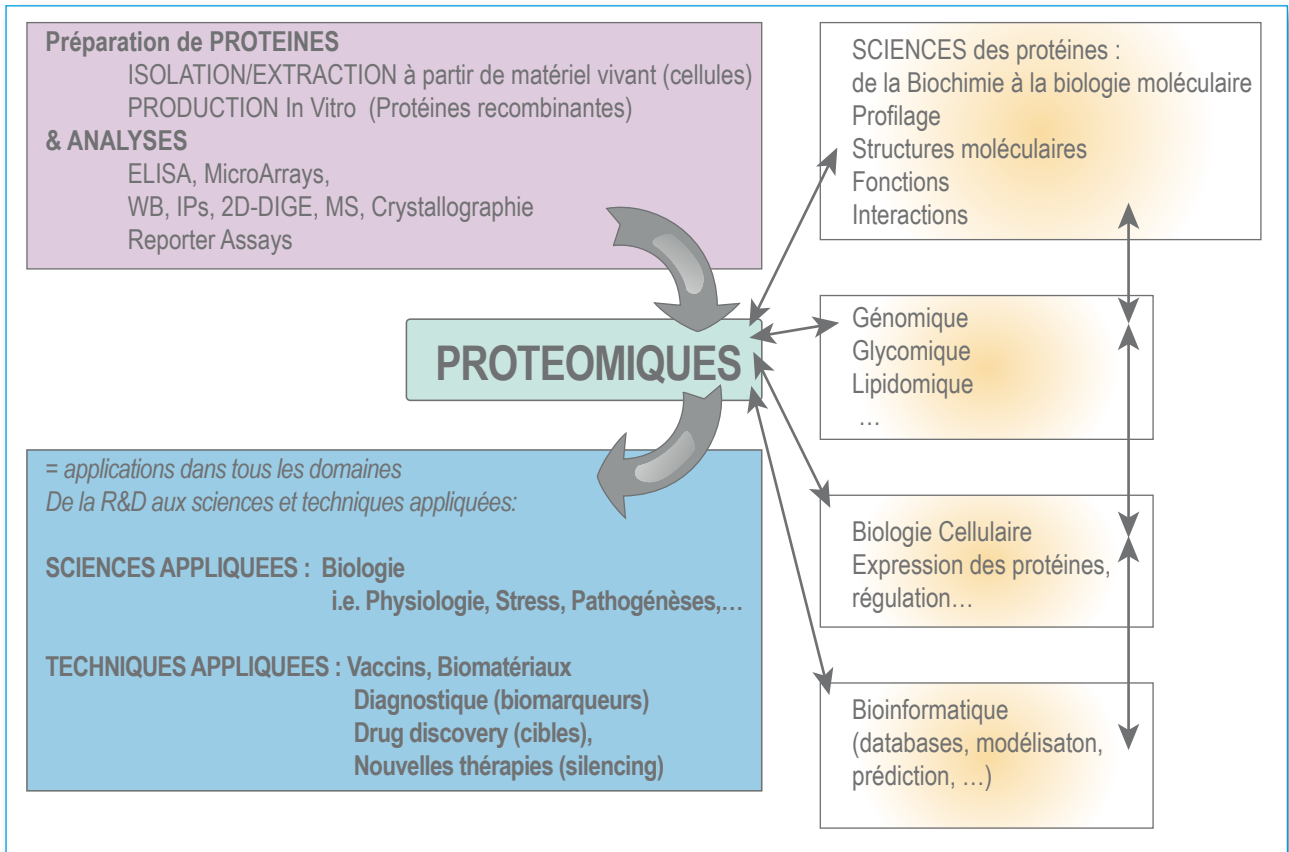
Gel d'électrophorèse	D.44-D.49
Acrylamides	D.44
New Electrophoresis X'PRESS Technology (NEXT GEL®)	D.46
GeBaGel, Gels d'électrophorèse pré-coulés et sa cuve, le GeBaRunner	D.48
ExpressPlus™ PAGE precast Gels Genscript	D.49
Marqueurs de taille moléculaire	D.50-D.51
Marqueurs de taille Genedirex et Uptima™	D.50
Marqueurs de taille moléculaire de Genscript	D.51
Tampons	D.52-D.54
Tampons d'électrophorèse Uptima™	D.52-D.53
Crack free	D.54
Colorants de gels	D.55-D.63
CooBlue Instant Stains Uptima™	D.56
ProSave Protein Gel stain Uptima™	D.57
Lumitein™ Protein Gel Stain Biotium	D.58
Protein Gel Stain 100X, RED Epicocconone based Fluoprobes®	D.59
Biochimiques pour la détection de protéines en gels	D.60-D.63

Expression des protéines

Microréseaux - Chambres d'incubation	D.64-D.66
ProPlate™ Multi-array Slide System	D.64
FlexWell™ removable incubation chambers	D.65
ONCYTE® Nitrocellulose Film Slides	D.66
Microréseaux - Tampons et réactifs	D.67
Tests rapporteurs - à Protéines Fluorescentes (GFP)	D.68-D.70
Split GFP et SuperFolder GFP	D.68
EvoGlow GFP (anaérobies)	D.69
Tests rapporteurs - Luciférase assays	D.71-D.74
Luciférines (substrats de la Luciférase)	D.71
Coelenterazines (substrats de la Luciférase et de l'apoeaquorin)	D.72
Tests rapporteurs de la Luciférase FluoProbes®	D.73
Tests rapporteurs - Galactosidase assays	D.75
Substrats et Kits de la β-Galactosidase	D.75
Production de Protéines recombinantes	D.76-D.78
pLEXSY-2, Système de	
Expression & Production eukaryotes	D.76
Expression de protéines - Transfection/Silencing	D.79
Transfection	D.79
Interactions des protéines	D.80-D.81
Ciseaux Moléculaires (FeBABE)	D.80
Substrats BRET	D.80
LanPower™: anticorps pour TR-FRET	D.81



Cadre et méthodes de la protéomique



Technical Tip

Protéomique

Le terme "Protéome" est apparu en 1995 pour désigner le concept de "cartographie des protéines" (Wasinger et al). La protéomique est l'ensemble des techniques utilisées pour analyser les protéines : électrophorese 2-D, analyse des compositions en acides aminés, Spectrométrie de masse...

La combinaison de ces techniques permet l'identification des protéines avant l'identification des gènes codant pour celles-ci. Actuellement, la protéomique permet non seulement l'identification des protéines mais également leurs abondances et modifications respectives. Les analyses moléculaires et biochimiques sont essentielles pour le développement des connaissances en protéomique. Les buts ultimes sont la détermination la plus fine de la structure d'une protéine (modifications post-translacionnelles), l'expression protéique et les interactions des protéines (localisation dans les cellules en fonction des processus physiologiques).

La protéomique est en inter-discipline avec la génomique et la biologie cellulaire et ses applications recouvrent des domaines de biologie cellulaire, de biologie moléculaire, du diagnostic et de la thérapie.



Dosages des Protéines & Peptides

Pour réaliser les dosages de protéines et polypeptides plusieurs techniques existent en solutions et en gels. Parmi ces techniques, les dosages colorimétriques sont largement utilisés du fait de leur facilité d'utilisation et de leur sensibilité. Le plus universel et précis est le BC Assay. Les méthodes fluorimétriques sont préférées quand de grandes sensibilités sont nécessaires ou pour le dosage de petits peptides.

Les dosages BC Assay et CooAssay (Coomassie) sont sans interférence, cependant il n'existe pas de dosage de protéines compatible avec toutes les substances présentes avec les protéines, en une étape, très sensible...

Dosages colorimétriques des protéines

Les dosages des protéines et polypeptides, ie leur quantification, sont réalisés en utilisant des marqueurs (liaisons polaires ou ioniques) ou des colorants (réactions chimiques). Parmi ces techniques, les méthodes colorimétriques sont les plus populaires par leurs caractéristiques intéressantes telles que facilité d'utilisation et sensibilité en commençant par le BC Assay.

Méthode	Commentaire	Produits clés Interchim®
Mesure d'absorbance UV	Méthode spectrométrique populaire de par sa simplicité malgré des limitations telles que faible sensibilité et dérivations.	IMAplate (fonctionnent également pour tous dosages colorimétriques et fluorimétriques)
Kjendal	Mesure des azotes ; très faible sensibilité.	
Biuret	Dosage colorimétrique, fondé sur la réduction des ions Cu ⁺⁺ en conditions alcalines. Faible sensibilité.	Biuret Assay #GS4320
Lowry	Méthode du Biuret améliorée (le réactif de folin-Ciocalteu augmente le développement de la couleur) ; lecture à 750 nm ; pas très simple d'emploi (les réactifs doivent être frais donc produit tous les jours ; nécessite 2 incubations ; temps et température doivent être contrôlés ; interférences possibles avec les composants des échantillons biologiques).	Modified Lowry protein Assay #381080 alt.: BC Assay plus pratique et plus performant
Bicinchoninic	Dosage colorimétrique, fondé sur la chélation des ions Cu ⁺⁺ par l'acide bicinchoninic avec développement d'une couleur mauve intense. C'est la méthode standard populaire simple d'utilisation, reproductible, linéaire (grande gamme de travail), faibles variations P/P, et grande compatibilité avec les détergent, lipides, DNA/RNAs et toutes substances non tolérées par la méthode de Lowry telles que agents réducteurs, chélatants...	BC Assay #40840A/R56071 MicroBC Assay #75860A
Formazan	Dosage colorimétrique fondé sur le WST-8	Protein Assay Kit #T32790
Bradford	Dosage colorimétrique fondé sur l'interaction d'un colorant (Coomassie) avec certains acides aminés ; très connu et utilisé mais avec beaucoup de modifications de procédures. Importante variations protéines à protéines. Méthode très rapide (1-5 min), sans incubation et pour des solutions contenant des agents réducteurs.	Coo Assay #UPF86400A/R56071
Fluorimétrique	Grande sensibilité, mais il existe différents principes et caractères. - AccuOrange : sensibilité de l'ordre de 0,1-15 µg/ml, très faibles variations P/P, mais faible tolérance aux détergents non ioniques sauf si combinés aux PPR - Epicocconone : détections aussi faible que 40 ng/ml de protéines par liaisons réversibles avec un colorant : totalement compatible avec la MS	AccuOrange Assay #1A8080 OPAAA/Peptides/Proteins Assay #02727A RED Epicoccostab Fluorescent Assay, #FP-CH419A
Autres	- Dérivatisation des acides aminés des peptides et protéines avant analyse (Chromatographie, Electrophorèses,...). - Dosage de protéines spécifiques : phosphoprotéines, glycoprotéines, protéines d'adhésion cellulaire...	OPA et autres réactifs pour dérivation des acides aminés

Technical Tip

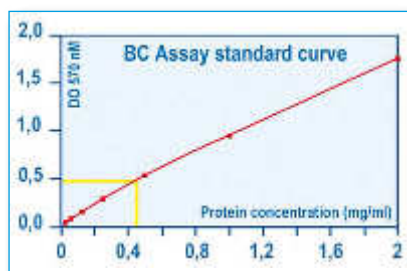
Catégories de dosages des protéines en solution

La plupart des dosages protéiques utilisent les propriétés des acides aminés (caractéristiques spectrales ou réactionnelles), constituants essentiels des protéines. Les techniques sont variées, selon que le réactif se fixe par adsorption (colorants) ou réaction chimie (marqueurs), et que son changement de couleur est détecté par spectrométrie (colorimétrie) ou fluorimétrie. On peut les classer ainsi :

- Méthode par spectrométrie pure : UV
- Méthodes avec réactions chimiques anciennes : Nitration, Kjeldal, Ninhydrin
- Méthodes avec réaction chimique Biuret/Lowry/BCA
- Méthodes avec colorants (interaction ionique/polaire) : Coomassie (Bradford), Ponceau, 660nm... On pourra distinguer certaines qui détectent les protéines précipitées (Coomassie R250, AmidoBlack)
- Méthodes fluorescentes, à réaction chimique (OPA, Ninhydrin) parfois réversible (epicocconone) jusqu'au pur colorant (CoomassieFluor)
- Méthodes pour protéine modifiée : Formazans, ...
- Méthodes pour détection de protéines immobilisées (en fait pour Blotting, IHC, Electrophorèse), et pour protéines modifiées (glycosylées, phosphorylées) : Formazans, ProQ Emerald,...



Uptima



BC protein assays (BCA)

Le dosage le plus populaire - Précis et de grande sensibilité

- Compatibilité totale avec les détergents, lipides, ADN... et agents réducteurs quand lié au réactif Protein Preparation Reagent (PPR)⁽¹⁾
- Dosage colorimétrique - lecture à 562 nm
- Parfaite linéarité - Grande gamme de travail (1-200 µg/ml, 5-200 µg/ml ou 20-2000 µg/ml)⁽²⁾

Le BC Assay est le développement ultime des dosages au Biuret et Lowry. Il allie les plus grandes performances et un tarif attractif.

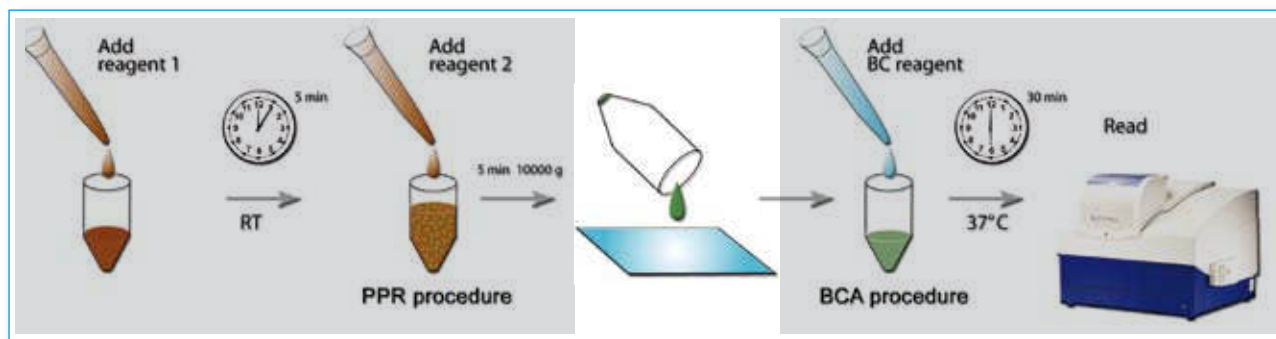
Le BC Assay est le plus populaire des dosages grâce à sa facilité d'utilisation (**1 étape**), sa **linéarité** inégalée sur une **grande gamme de travail** (0,5 à 2 mg/ml)⁽²⁾, sa compatibilité avec de nombreux agents tels que les détergents (SDS), les lipides et acides nucléiques et sa grande **sensibilité** (0,5 µg/ml - 20 µg/ml). Il fonctionne également parfaitement pour les **glycoprotéines**.

La détection se fait entre 540 et 590 nm (optimal 562 nm).

Le dosage est disponible chez Interchim® avec une compatibilité étendue aux SDS, DTT, Urée, Tris et BME grâce à l'utilisation du PPR.

⁽¹⁾ Compatibilité totale avec les substances normalement non tolérées par le BCA classiques (Agents réducteurs, chélatants)

⁽²⁾ Sensibilité et gamme de travail dépendent du protocole suivi et du kit utilisé



Produit

No-Interferences BC Assay protein dosage

(Le kit BC assay complet. Contient BC Assay UP40840B (2 x 250 ml) et réactif PPR reagent R5594A (500 ml))

Réf.

R5977

Qté

1kit
(2 x 250 ml, 250/500 tests)

BC Assay protein determination kit

(La version standard - 20 - 2000 µg/ml ou 5 - 200 µg/ml (protocole amélioré). Contient 2 réactifs à mélanger 1:1. Le kit #UP40840A contient 1 l du réactif A #UP95424A, 25 ml du réactif B #UP95425B, 10 x 1 ml BSA @ 2 mg/ml et permet le dosage dans 500 tubes ou 5000 tests en micro puits.)

UP40840A

1kit (1l)

UP40840B

1kit (250 ml)

MicroBC Assay protein determination kit

(La version la plus sensible - 0,5 - 200 µg/ml. Contient 3 réactifs à mélanger 25:25:1. Le kit #UP7586A contient 250 ml de réactif A #UP67251A, 250 ml de réactif B #UP67252A, 12 ml de réactif C #UP67253A, 10 x 1 ml BSA @ 2 mg/ml Il permet le dosage dans 500 tubes ou 3400 tests en micro puits)

UP75860A

1kit (500 ml)

UP75860B

1kit (50 ml)

Produit	Réf.	Qté	Réf.	Qté
BC Assay reagent A	UP95424A	1 l	UP95424B	250 ml
BC Assay reagent B	UP95425A	25 ml	UP95425B	6 ml
MicroBC Assay reagent A	UP67251A	250 ml	UP67251B	25 ml
MicroBC Assay reagent B	UP67252A	250 ml	UP67252B	25 ml
MicroBC Assay reagent C	UP67253A	12 ml	UP67253B	1,2 ml
BSA standard 2 mg/ml	UP36859A	10 x 1 ml	UP36859D	25 ml



Coo Protein assays (bradford modifié)

La formulation améliorée du dosage Bradford

- Compatibilité totale - avec les agents réducteurs... et plus⁽¹⁾
- Dosage colorimétrique - lecture à 562 nm
- Excellente linéarité / Large gamme de travail
 1 - 200 µg/ml, 5 - 200 µg/ml ou 20 - 2000 µg/ml⁽²⁾

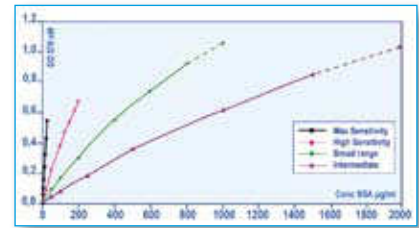
Le dosage Bradford est recommandé pour des analyses rapides avec incubateur ou lorsque des agents réducteurs sont présents dans la solution protéique. Les limites du dosage sont : compatibilité réduite pour de nombreux détergents, lipides et échantillons alcalins, et une grande variabilité de signal de protéine à protéine.

La détection se fait dans la gamme 570-610 nm (optimal @ 595nm).

Un kit Bradford amélioré combiné au réactif PPR est disponible : ce kit présente une compatibilité totale avec toutes les substances.

⁽¹⁾ Compatibilité totale avec SDS, agents réducteurs grâce au réactif PPR

⁽²⁾ Sensibilité et gamme de travail dépendent du protocole suivi et du kit utilisé



Produit	Réf.	Qté
No-Interferences BC Assay protein dosage Le kit Bradford complet. Contient CooAssay UP87542B (2 x 250 ml) et le réactif PPR R5594A (500 ml)	F86400+R5594A	1kit (2 x 250 ml, 250/500 tests)
Coo Assay protein dosage Le dosage original pour une flexibilité maximum. Sensibilité : 0,5 µg/ml. Linéarité maximale. Gamme de travail 1 à 2000 µg/ml - UPF8600 kit contient 1 L Coo reagent #UPF863420 et 10 x 1 ml BSA@ 2 mg/ml. Permet le dosage dans 500 tubes ou 4000 tests en micro puits.	UPF86400 UPF86401	1kit (1) 1kit (250 ml)
Coo Assay Standard protein dosage La version alternative directe du Coomassie assay 23200. Sensibilité : 1 µg/ml. Gamme de travail 1 à 1500 µg/ml - UP36858A contient 1L Coo reagent #36858a et 10 x 1 ml BSA@2mg/ml, permet le dosage dans 500 tubes ou 4000 tests en micro puits.	UP75860A UP75860B	1kit (500 ml) 1kit (50 ml)
Coo Assay MAX protein dosage La version alternative directe du Coomassie assay 23236. Sensibilité : 0,5 µg/ml. Linéarité maximale. Gamme de travail 1 à 1000 µg/ml - UP87542A contient 1 L Coo reagent #87542a et 10 x 1 ml BSA@2 mg/ml, permet le dosage dans 500 tubes ou 4000 tests en micro puits.	UP87542A UP87542B	1kit (1) 1kit (250 ml)



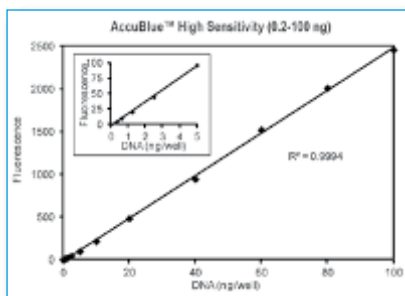
Fluorescamine Protein Quantitation

Le kit Amplite™ Fluorescamine Protein Quantitation est bien plus sensible que les dosages colorimétriques standards. Il utilise la Fluorescamine non fluorescente qui réagit rapidement avec tous les amines aliphatiques primaires dont ceux contenus dans les peptides et protéines pour délivrer un dérivé fluorescent bleu-vert. Cette méthode de quantification de la concentration protéique en solution est simple. Le kit peut être utilisé en plaques 96 ou 384 puits. Le dosage est réalisé en 30 minutes et le signal est mesuré à Ex/Em = 380/470 nm. Le kit est utilisé pour :

- La mesure de fractions protéiques après chromatographie d'affinité
- Estimer le pourcentage de protéines membranaires après extractions cellulaires
- Visualisation à haut rendement de protéines de fusions

Produit	Réf.	Qté
Amplite Fluorimetric Fluorescamine Protein Quantitation Kit "blue fluorescence"	CJF920-11100	1 kit

Le kit contient : Fluorescamine, solvant et BSA standard. Protocole en 30 min. Lecture à Exc.Em. 380/470 nm. Sensibilité 3 µg/ml



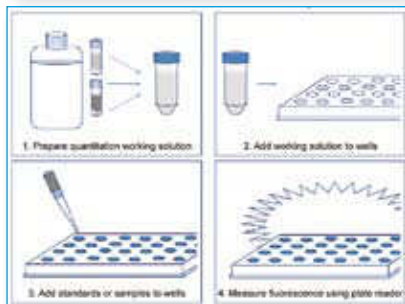
AccuOrange Protein Assay

Haute sensibilité, dosage fluorescent

- Grande sensibilité & Linéarité : 0,1 - 15 µg/ml
- Signal Stable : 16 heures !
- Rapide : protocole en 20 minutes

AccuOrange est parfait pour réaliser un dosage sensible de protéines difficiles ou quand la lecture doit être reportée (dans le cas de nombreux échantillons par exemple). Il est simple d'utilisation : chauffer réactifs et échantillons mélangés à 92°C 10 minutes. Mesurer la fluorescence à Exc./Em. 480/598 nm.

L'AccuOrange tolère 0.01% final de SDS, il a une faible compatibilité avec les détergents non-ioniques. Il n'est pas recommandé pour les extraits cellulaires avec le desoxycholate de sodium (DOC), CHAPS, TX100, ou alors après traitement par le Protein Preparation Reagent (PPR).



Produit	Réf.	Qté
AccuOrange Protein Quantification Kit Contient suffisamment de réactifs (marqueur 500x, tampon 10x, BSA standard 2 mg/ml) pour 200 dosages (microplaque). Haute sensibilité (0,1-15 µg/ml protéine), linéaire et reproductible. 20 min protocole. Lire à exc/em. : 480/598 nm.	1A8080-30071	1 kit (2000 tests)
	1A8080-30071-T	Format test

Peut-être utilisé avec le Fluoromètre AccuLite™ 470 Mini.



Dosage des protéines et peptides basé sur l'épicoconone

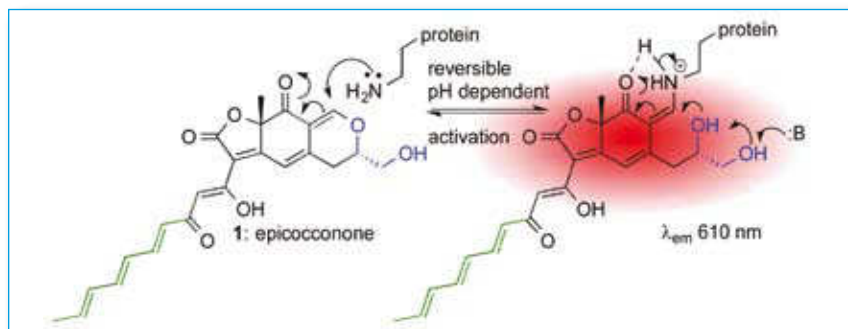
Dosage fluorescent précis et sensible des peptides et protéines basé sur un analogue breveté de l'Epicoccone

- **Très sensible** : 100 ng/ml (peptides) et 40 ng/ml (protéines)
- Faible variabilité de protéine à protéine - Excellent pour les Glycoprotéines
- Large gamme dynamique de linéarité (magnitude de 3)
- **Sans danger et simple à éliminer** (biodégradable - pas de solvant ou de métaux lourds)
- **Simple et rapide** : 60 minutes
- Utilisable en HTS

Ce dosage utilise un analogue synthétique innovant de l'Epicoccone plus stable à la lumière et à la température. Les résultats sont donc plus reproductibles comparés à tous les autres tests basés sur l'Epicoccone tel que le LavaPep. Le marqueur se lie réversiblement aux Lysines, Arginines et Histidines des peptides et protéines, générant une fluorescence rouge intense, réalisant une grande sensibilité est obtenue, avec une large gamme dynamique.

Ce dosage ne précipite ni ne dénature les peptides, les échantillons peuvent être réutilisés. Il est plus fiable que les dosages fluorescents alternatifs et ceci plus particulièrement pour les protéines difficiles à doser.

De plus, ce dosage est économique et utilisable pour de nombreuses applications : MS et HPLC, Séquençage N-terminal, DIGE...



Produit

Protein&Peptide Fluorescent Assay, RED Epicoccostab
Contient une quantité de réactifs suffisante pour 2000 tests. Protocole de 60 min.
Sensibilité : 40 nM.

Réf.

FP-CH4191

Qté

1 kit (2000 tests)

OPA Protein Quantitation

- **Fluorescent** (λabs. : 338±5 nm, λem. : 455±10 nm)
- **Grande sensibilité** : 0,1 à 50 µg/ml
- **Sans odeur**

Le dosage OPA est une alternative efficace aux dosages standards quand ceux-ci ne donnent pas une sensibilité suffisante ou ne sont pas compatibles avec le milieu des protéines à doser. Ainsi, ce dosage est parfait pour les échantillons préparés pour les électrophorèses en SDS-PAGE (qui contiennent du SDS, du DTT ou du b-Mercaptoethanol) ou pour les Immunodosages (Tween-20 et Tween-80) ou encore pour les extraits cellulaires et bactériens (Triton X100, Bris-35, CHAPS...). Ce kit permet également la détection des acides aminés en chromatographie.

Produit

OPA Protein Quantitation
Contient OPA (350 µl), solution réductrice (200 µl), tampon de dosage (20 ml) et BSA standard 1 mg/ml (500 µl), en quantité suffisante pour 500 dosages.

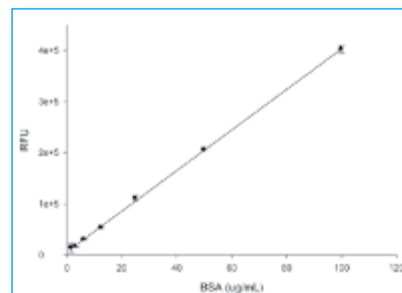
Réf.

51225A

Qté

1 kit (500 tests)

Peut-être utilisé avec le Fluorimètre AccuLite™ 470 Mini.



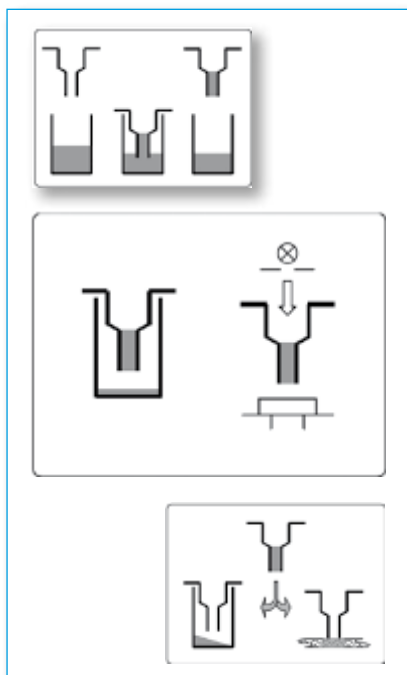
Aussi disponible : OP en poudre Réf. 02727B



Autres dosages de protéines

Dosages colorimétriques

Produit	Réf.	Qté
Biuret reagent protein Assay Solution de réactifs Gornall Bardawill & David	1E5350	1 l
Modified Lowry protein Assay Colorimétrique ; lecture à 570 nm ; sensibilité : 1 - 1500 µg/ml	381080-23240	1 kit
660 nm protein Assay Compatible avec les détergents et agents réducteurs ; sensibilité : 25/50-1000 µg/ml ; utilisable avec le réactif Réf. DV49301 compatible avec les détergents Ioniques	DV4920-22662	1 kit (450 ml)
Biuret Assay Solution de Biuret prêt à l'emploi ; Sensibilité 1-10 mg/ml ; qsp 50-70 échantillons	GS4320-M262	500 ml
BCS Protein Assay Dosage de protéines "Biuret-like" avec coloration inverse : le cuivre non-réactionnel donne une coloration inversement proportionnelle aux concentrations protéiques et peptidiques ; lecture à 385 nm.	729571-N962	1 kit
Tp-Blue Protein Assay Kit	FI9371-T3000	1 kit
Pyrogallol Total Protein Assay	FI9381-T4000	1 Kit
Tp-Blue & Tp-Red Protein Assay Kit	FI9391-T5000	1 Kit
Coomassie Protein Assay Kit, Microplate Format Contient 7,5ml réactif de dosage 6,6X, 5 microplaques, standard ; protocole en 5 min ; lecture à 595 nm ; sensibilité 5,6 µg/ml	GK1780-704002	480 tests
Aldehyde site (DNA and protein) detection kit	AYO560-600170	
Protein quantitation kit - Wide Range Contient : solution CBB (100 ml x 2), standard de BSA à 4 mg/ml (1,5 ml)	T32790-PQ01-10 PQ01-12	500 tests 2500 tests
Precision Red Advanced Protein Assay (1X conc.) Faible variation protéine à protéine ; gamme de dosage 0,25-50 mg/ml ; compatible avec les détergents. Protocole en 1 étape en 1 min simple (changement de couleur de rouge à bleu, lecture à 600 nm).	NJQ170-ADV02-A NJQ171-ADV02-B	500 ml 3 x 500 ml



Mesure par absorbance UV (IMAplate)

La détermination quantitative des protéines par spectrométrie est très populaire car elle est simple et rapide. Cependant, elle est peu sensible. La technique repose sur l'absorbance optique des liaisons peptidiques (215 nm) ou des acides aminés aromatiques (280 nm). La nécessité est de connaître le coefficient d'extinction des protéines à doser. De plus, cette méthode ne fonctionne pas pour des échantillons contenus dans des tampons contenant de nombreux composants (sels, DMSO, détergents...) ou des contaminants absorbant dans l'UV (Hémoglobine). Enfin, la fluorescence nécessite des cuves de lecture en quartz très chères et des gros volumes d'échantillons.

IMAplate permet des mesures spectrométriques directes en micro-plaques ayant des puits sans fond de petit volume (1-6 µl) avec un lecteur UV micro-plaques (pas besoin de cuvettes ou de système onéreux). Les échantillons sont récupérables.

Les IMA plates sont utilisables pour les détections UV d'ADN/ARN (260 nm).

Produit	Réf.
IMA plates Micro-plaque 96 puits. Mesure UV directe ou par colorimétrie ou fluorimétrie.	DR9601



Introduction aux méthodes et réactifs pour traitement des échantillons (changement de ligne) avant dosages protéiques

Dans certains cas, il n'est pas possible de quantifier directement les protéines (interférences avec les composants de la solution protéique). La préparation des protéines peut être menée par dialyse (pas chère mais longue), gel filtration (rapide mais onéreuse), extractions (pour éliminer les détergents) ou précipitations chimiques ou neutralisation.

- **Dessalage par dialyse** [Voir section "Dialyse"](#)
- **Dessalage par gel filtration** [Voir section "Filtration sur Gel"](#)
- **Protein Preparation Reagent (PPR)** [Description ci-dessous \(#R5594A\)](#)
Rapide et peu cher. cf description avec le BC Assay.
- **Réactif de compatibilité avec les solvants ioniques** **DV4930-22663**, 5 x 1 g
Suffisant pour 600 tests (ajout à 5 x 20 ml de réactif 660 nm Protein Assay Reagent Réf. **DV4910-23660**)
- **Réactifs de neutralisation des thiols et agents réducteurs** [Voir section "Modification des sulfhydryles"](#) N-Ethylmaleimide (NEM) Réf. **04474B**



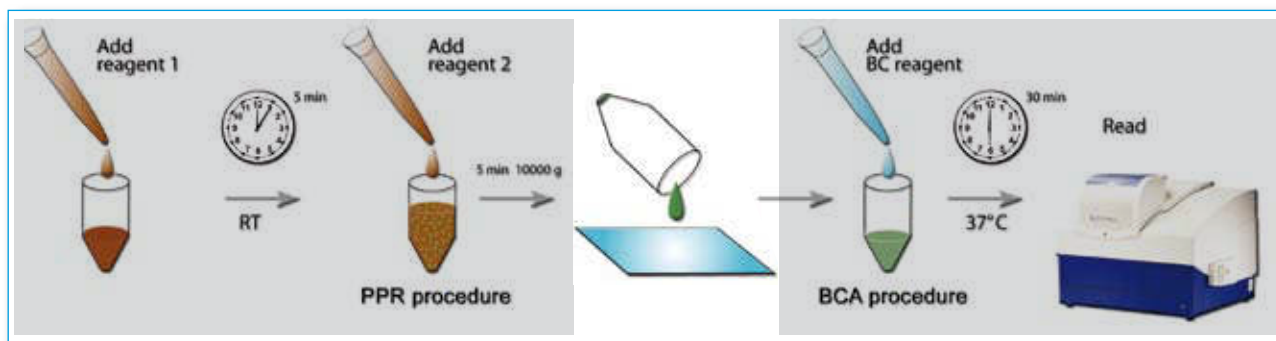
Réactifs de précipitation de protéines

La précipitation des protéines est une méthode pratique pour concentrer les protéines tout en éliminant les composants indésirés non précipitants. Avec notre kit Protein Precipitation Reagent, cette méthode est facilement mise en œuvre avant le dosage des protéines en solution, pour l'analyse des protéines par électrophorèse, pour concentrer les protéines ou encore éliminer les substances interférentes (sels, amines, réducteurs, lipides...).

Protein Preparation Reagent (PPR)

Idéal pour rendre toute méthode de dosage des protéines compatible avec tous les détergents et agents réducteurs !

- Dessalage et concentration des protéines compatible avec tout type de dosage (colorimétriques, fluorimétriques)
- **Facile d'emploi** : protocole de 10 - 15 min à température ambiante
- **Flexible** : utilisable pour tout échantillon, même tout petit (50 µl) en une étape
- **Sans danger** : pas de solvants organiques
- **Economique**



Notre "Protein Preparation Reagent" élimine efficacement et sélectivement les molécules non protéiques. Seules les protéines sont gardées. Il est très utile pour de nombreuses applications, en particulier pour éliminer toutes interférences avec les molécules autres que protéiques. Cela élimine le choix toujours difficile long ou cher du dosage protéique à utiliser, tous étant plus ou moins sensibles aux substances interférentes.

Notre "Protein Preparation Reagent" est la solution pour répondre aux limitations d'emploi des méthodes classiques de dosage de protéines.

Produit	Réf.	Qté
Protein Preparation Reagent (PPR) Contient : réactif 1 (250 ml) et réactif 2 (250 ml)	R5594A	1 kit

Kit contient : qsp 50 ml d'échantillon

Le réactif PPR est également disponible dans les kits de dosages de protéines BCAssay (Réf. 40840BX2 + R5594A) et CooAssay (Réf. 87542BX2 + R5594A).



Carrez clarification

Le kit Carrez clarification traite une grande variété d'échantillons de nourriture mais aussi sanguins destinés à être analysés. Le réactif précipite les protéines de milieux gras et donc élimine turbidité et émulsions et les interférences dues aux composés RedOx. La plupart des échantillons collectés pour l'analyse de petites molécules tels que carbohydrates, aldéhydes et acides organiques peuvent être traités par ce kit. Celui-ci n'est à utiliser ni pour les quantifications d'activités enzymatique ni pour les analytes qui doivent être convertis (ascorbate, vitamine C), citrate, urée (> ammonium), aconitate (> citrate).

Produit	Réf.	Qté
Carrez clarification kit Contient : Réactif I (500 µl) et Réactif II (500 µl) ; Quantité suffisante pour 100 échantillons de 1 à 5 g. Quantité suffisante pour 10 tests	IDJ181	1 kit

Carrez clarification

Produit	Réf.	Qté
Protein Precipitation Plates	RJ6420-90036	2 plaques
	RJ6421-90037	10 plaques
96-Well Microplates, for BCA-RAC Assay Kit contient : Quantité suffisante pour 50 ml d'échantillon	RJ1380-15045	

Kits d'enrichissement

Voir section kits d'enrichissement.



Détection des Protéines, Peptides et Acides Aminés

De nombreux **marqueurs chromogéniques** des protéines existent pour détecter les protéines en solution, sur gels d'électrophorèse ou en microscopie. Les indicateurs colorés Coomassie et Ninhydrine sont classiquement utilisés pour quantifier les protéines en solution ou en Chromatographie sur Couche Mince (CCM), et même sur lames de verre (microscopie).

Les **marqueurs fluorescents** sont également utilisés pour doser les protéines. Ils sont détectés spectrométriquement par leur absorption ou par fluorescence.

Les Phtaldéhyde (OPA) et l'acide sulfonique trinitrobenzène sont utilisés pour quantifier les Acides Aminés, Peptides et Protéines en solution.

Outre l'OPA, de nombreux autres réactifs sont utilisés pour dériver les Acides Aminés pour analyse en électrophorèse capillaire ou en chromatographie.

Coomassie

Les Coomassie R-250 et G-250 sont les deux dérivés chimiques du coomassie les plus courants.

Le R-250 (rouge) diffère du G250 (vert) par la perte de groupements méthyl.

Pour les détections des protéines en gel ou pour les dosages type Bradford, les gels de Coomassie et les réactifs de dosage sont en solution très acides avec 25 - 50% de méthanol. En conditions acides, le marqueur se lie aux protéines par leurs acides aminés basiques (Arginine, Lysine et Histidine). Le nombre de molécules de marqueurs liées aux protéines est proportionnel au nombre de molécules de protéines chargées positivement. La liaison des marqueurs sur la protéine provoque le changement de couleur du marqueur de marron-rouge à bleu brillant (absorption maxi à 595 nm).

Quand il est dissous dans un tampon citrate 0,01 M pH 3 le coomassie a λ_{\max} de 555 nm ; le complexe marqueur-protéine est caractérisé par un pic légèrement plus large que le marqueur seul avec un maximum d'absorption à 549 nm. Ainsi, les marqueurs libres et liés sont différenciés.

Produit	Réf.	Qté	
Coomassie G250	077582	5 g	
MW : 854,4 ; CAS : [6104-58-1]. Très utilisé pour les dosages de protéines en solution et pour les marquages de gels d'électrophorèse.	077584	25 g	
Coomassie G250, Proteomics grade	11524A	10 g	
	11524B	25 g	
Coomassie R250	115252	5 g	
	MW : 825,99 ; CAS : [6104-59-2]. Très utilisé la coloration de gel d'électrophorèse de protéines par la méthode avec solution colloïdale.	115253	25 g
	115254	50 g	
Coomassie R250, Proteomics grade	11525A	5 g	
	11525B	25 g	
	11525C	50 g	

Voir aussi les réactifs formulés au Coomassie (Bradford) page D.5



Dosages/dérivatisations à l'OPA fluorescent

Pour les Peptides et Acides Aminés.

- **Grande sensibilité** : 10 pMol/GC à 10 μ M
- **Versatile** : fluorescence ou colorimétrie

L'OPA (Phthalaldehyde) est idéal pour les dosages de petites molécules contenant des amines. Une sensibilité de 10 μ m est obtenue dans des dosages en tubes et de 10 pMol en chromatographie gazeuse. Il fonctionne également en absorbance et pour la détection de thiols.

Produit	Réf.	Qté
o-Phthalaldehyde (OPA) MW : 134.13 ; réagit avec les amines primaires ; Détecté en UV (λ_{max} : 340 nm/455 nm). Sonde de détection fluorescente pour amines (i.e. Acides Aminés, Protéines et Peptides).	UP02727A	1 g
	02727B	5 g
o-Phthalaldehyde reagent	512250	945 ml
OPA Protein Quantitation Contient réactif OPA (350 μ l), solution de Réduction (B : 200 μ l), tampon de dosage (C : 20 ml) et BSA standard 1mg/ml (500 μ l), qsp 500 dosages. Modifie spécifiquement les arginines en conditions douces (pH7-9). Mesure à 340 nm	51225A	1 kit (500 tests)

Réactifs de dérivation pour les AA

Produit	Réf.	Qté
Ninhydrin MW : 178,14 ; réagit avec les amines primaires et secondaires ; détection UV (λ_{max} : 440 nm) très utilisée en dérivation post-colonne (sensibilité mM). détection colorimétrique utilisée en TLC, en tube ou microplaque (jusqu'à 0,02 μ g).	024401	100 g
TNBSA reagent 2,4,6-Trinitrobenzene sulfonic acid 5% en MeOH; MW : 293.17 ; réagit avec les amines; (λ_{max} : 335-345 nm).	BC3361	100 ml
Fluorescamine, Pure Grade	FP-12631E	100 mg
Spiro(furan-2(3H),1'(3'H)-isobenzofuran)-3,3'-dione, 4-phenyl ; MW : 278.26 ; détection jusqu'à 10 ng de protéines	FP-R1246A	100 mg
FluoProbes® (NHS, MAL, HYD) labeling agents	Voir section "labeling"	
FITC, TRITC, TMR...labeling agents Les FluoProbes® 488, 547H, 647H activés par le succinimidyl ester, maleimide ou hydrazide sont très avantageux pour dériver les protéines, peptides ou autres molécules par leurs groupements amino-, sulfhydryle ou carbonyle. Sensibilité bien supérieure aux marqueurs classiques tels que FITC/TRITC/TMR ou Cy	Voir section "labeling"	
PDAM (1-Pyrenyldiazomethane) $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ (après dérivation) : 340 / 378 nm - MW : 242,27	FP-76082A	25 mg
Sonde de dérivation HPLC pour la détection des acides carboxyliques avec une limite de détection meilleure et une plus grande stabilité chimique que l'ADAM (9-anthryldiazomethane)		
NDA (Naphthalene-2,3-dicarboxaldehyde) $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ (après dérivation) : 419 / 493 nm - MW : 184,9	FP-46870A	100 mg
Sonde de dérivation HPLC pour les amines avec des avantages comparés à l'OPA : dérivés plus stables et spectre avec des longueurs d'onde plus élevées		
FQ derivatization reagent (3-(2-Furoyl)quinoline-2-carboxaldehyde) $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ (après dérivation) : 486 / 591 nm - MW : 251,24	FP-86524A	25 mg
Sonde de dérivation neutre pour amines pour le dosage picomolaire des protéines par électrophorèse capillaire ou chromatographie		
ABD-F 4-Fluoro-7-aminosulfonylbenzofurazan; 4-aminosulfonyl-7-fluoro-2,1,3-benzoxadiazole ; MW : 232.21 ; $\lambda_{abs}/\lambda_{em}$ (libre) : 315nm/none. ; $\lambda_{abs}/\lambda_{em}$ (couplé) : 389/513 nm.	FP-57564A	10 mg
Réactif de dérivation très utilisé en HPLC ; formation d'un complexe très fluorescent avec les groupements amino et thiol ; utilisé aussi pour marquer les peptides, protéines et autres biomolécules, pour les localisations, études des structures, fonction et transport.		
NBD-Cl 4-Chloro-7-nitrobenzofurazan ; MW : 199,55 ; $\lambda_{abs}/\lambda_{em}$ (libre) : 337 nm/- ; $\lambda_{abs}/\lambda_{em}$ (NH ₂ lié) : 464/512 nm	FP-T3226A	1 g
Réagit avec les thiols (30 fois plus rapidement que le SBD), et avec les groupements amino. Largement utilisé en Chromatographie sur Couche Mince et HPLC. Sélectivité et sensibilité bien supérieure à l'OPA. Les limites de détection des cystéines, glutathiones, N-acetylcystéines, et cystéamines pré-marquées avec l'ABD sont respectivement 0,6 - 0,4 - 1,9 et 0,5 pmol/injections		
NBD-F 4-Fluoro-7-nitrobenzofurazan ; MW : 183,1 ; $\lambda_{abs}/\lambda_{em}$ (libre) : 337 nm/- ; $\lambda_{abs}/\lambda_{em}$ (NH ₂ lié) : 464/512 nm	FP-U0573A	25 mg
Propriétés et applications similaires au NBD-Cl. Comparé au NBD-Cl, il est plus réactif.		



Uptima FluoProbes®

Réactifs de dérivation pour les AA (suite)

Produit	Réf.	Qté
SBF-Cl 4-Chloro-7-sulfobenzofurazan, ammonium salt; MW : 251,65; $\lambda_{abs}/\lambda_{em}$ (libre) : 380 nm/-; $\lambda_{abs}/\lambda_{em}$ (lié) : 385/515 nm Sonde fluorescente soluble dans l'eau pour marquage de thiols. Non cytotoxique ou mutagène. Utilisé pour des dérivations en chromatographie.	FP-AM858A	5 mg
SBF-F 4-Fluoro-7-sulfobenzofurazan, ammonium salt; MW : 235,2; $\lambda_{abs}/\lambda_{em}$ (libre) : 385 nm/-; $\lambda_{abs}/\lambda_{em}$ (couplé) : 385/515 nm Même caractéristiques que le SBF-Cl. Dérivation de thiols en chromatographie. Limite de détection en HPLC des thiols tels que glutathione, cystéine, N-acetylcystéine, CoA, et BSA est de l'ordre de 100-500 pmol/injection.	FP-AM859A	10 mg
ANTS 8-Aminonaphtalène-1,3,6-trisulfonic acid; MW : 427,34; $\lambda_{abs}/\lambda_{em}$: 353/520 nm; EC : 7 200 M ⁻¹ cm ⁻¹ Marquage des glycoprotéines ou des sucres (réaction avec les aldéhydes ou les cétones). Largement utilisé pour le séquençage des oligosaccharides et des glycoprotéines, et pour les électrophorèses de produits de dégradation des carbohydrates polymériques.	FP-46574A	500 mg
APTS 8-aminopyrene-1,3,6-trisulfonic acid, trisodium salt; MW : 523,4; Soluble dans l'eau; $\lambda_{abs}/\lambda_{em}$ (libre) : 424/505 nm Sonde fluorescente verte et multi-anionique ($\lambda_{abs}/\lambda_{em}$ (libre) : 424/505 nm) pour le marquage de glycoprotéines ou de sucres (réaction avec les aldéhydes ou les cétones). Il est idéal pour les hautes résolutions de carbohydrates en électrophorèse capillaire.	FP-33972A	10 mg
5-FITC Fluorescein-5-thioisemcarbazine; MW : 421,43; Soluble dans le DMF et le DMSO; $\lambda_{abs}/\lambda_{em}$ (pH>7.0) : 492/516 nm Réagit avec les cétones pour former des hydrazones relativement stables et les aldéhydes pour former des hydrazones moins stables. Très largement utilisé pour modifier les sucres réduits pour les analyser en gels et leur séquençage.	FP-47552A	25 mg
DMEQ-COCl 3-Chlorocarbonyl-6,7-dimethoxy-1-methyl-2(1H)-quinoxaline; CAS : 104077-15-8; MW : 282,69; $\lambda_{abs}/\lambda_{em}$: 400/500 nm Sonde pour le marquage des alcools primaires et secondaires. La limite de détection en HPLC des benzylalcool, n-hexanol, et cyclohexanol est de 2-3 femtomoles par injection. Détecte également les stéroïdes ayant des alcools primaires ou secondaires ou des amines (0,3 pmol/ml de b-phenylethylamine ont été détectés dans du sérum humain).	FP-69129A	10 mg
HPG β -Hydroxyphenyl Glyoxal; MW : 168,2; plus résistant que le p-Nitrophenyl Glyoxal et plus soluble que le phenylglyoxal Modifie spécifiquement les arginines en conditions douces (pH 7-9). Détection à 340 nm	UP36862A	100 mg
SulfoNHS - acetate Sulfo-succinimidyl-acetate; MW : 259,2; soluble dans l'eau Bloque efficacement les amines primaires à pH7-10; modifications des peptides ou protéines avant analyses et études des liaisons sur leur site	UP69380A	100 mg

Standards de Protéines

Produit	Réf.	Qté
Bovine Serum Albumin (BSA) standard, 2 mg/ml	UP36859A	10 x 1 ml
Conditionné en micro flacons autostables avec bouchons vissants	UP36859D	30 ml
Bovine Serum Albumin (BSA) standard, 0,5 mg/ml	GK1792-E531	1,5 ml
Lyophilized GlycoProteins Standards	L77470-23259	



Instruments pour dosages de protéines

MiniFluorimeter

Les Mini fluoromètres AccuLite™ portables sont simples d'utilisation, légers, et fonctionnent sur batterie et sur secteur. Ainsi, ils sont idéaux pour des usages au laboratoire et à l'extérieur. Les Mini Fluorimètres sont pré-programmés pour les kits de quantification d'ADN et de protéines Biotium. Ils sont également utilisables pour des mesures générales de fluorescence ou avec des programmes définis par les utilisateurs.

Caractéristiques

- Acceptent des tubes PCR de 200 uL ou des minis tubes en verre
- Ecran LCD, interface tactile
- Port USB pour export de données
- Compact et solide
- Gamme dynamique de plus de 6 logs

Spécifications techniques

- AccuLite™ 350 : 365-370 nm LED excitation, 460+/-20 nm émission (Fluorescence bleue)
- AccuLite™ 470 : 465-475 nm LED excitation, 540+/-30 nm émission (Fluorescence verte)
- Power : 4 AA batteries ou adaptateur 5V DC
- Temps de chauffage : moins de 10 secondes
- Dimensions : 185 mm x 90 mm x 35 mm
- Poids : 0,28kg (10 oz)



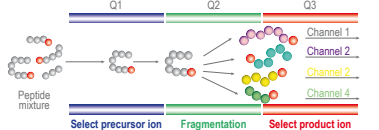
Produit	Réf.
AccuLite 350 Mini Fluorometer	E90000
AccuLite 470 Mini Fluorometer	E90001



Multiple Reaction Monitoring (MRM)

La technologie MRM permet aux chercheurs de sélectionner des peptides d'intérêt sans interférence des autres peptides. Les peptides sont détectés par analyse en spectrométrie de masse et la concentration exacte peut être déterminée.

Concrètement, dans une première étape, un ion d'intérêt (ion parent/précurseur) est sélectionné en Q1 et est fragmenté dans la cellule à collision (Q2). Dans une deuxième étape, au lieu d'obtenir un balayage complet de tous les fragments dérivés du précurseur, seul un petit nombre d'ions spécifiques d'une séquence est analysé en Q3. Cette analyse ciblée améliore jusqu'à 100 fois la limite inférieure de détection tout en permettant un contrôle rapide et continu des ions spécifiques d'intérêt.



Le mode de balayage MRM est utilisé pour quantifier de petites molécules, telles que les métabolites de médicaments. Le même principe est appliqué à des peptides produits à partir de la digestion enzymatique de protéines. Les progrès technologiques permettent aujourd'hui de **multiplexer jusqu'à 34 biomarqueurs différents** en mesurant les niveaux peptidiques dans une gamme. Ces tests utilisent l'ionisation électrospray suivie de deux étapes de sélection de masse (comme illustré ci-dessus). Les instruments modernes triple quadripôle sont capables de mesurer ces nombreuses transitions en une seule expérience c'est pourquoi cette technique est appelée Multiple Reaction Monitoring (MRM).

Kits MS2Plex® pour la quantification de protéines membranaires

La gamme de kits MS2Plex® permet la quantification de protéines membranaires notamment pour l'étude du métabolisme des médicaments. Ces kits utilisent la technologie LC-MS/MS en mode MRM (Multiple Reaction Monitoring). MRM (Multiple Reaction Monitoring), combinée avec des standards internes marqués par des isotopes stables. Au final, la technique MS2Plex permet une quantification absolue de la concentration du produit à analyser.

Avantages des kits MS2Plex®

- Une gamme unique et large de kits de quantification de protéines membranaires validés en LC-MS/MS
- Standards peptidiques et internes de haute qualité
- Haute sensibilité (fmol/pg de protéine totale) et spécificité par filtre de masse
- Quantification simultanée : jusqu'à 34 protéines en une seule mesure
- Enzymes incluses

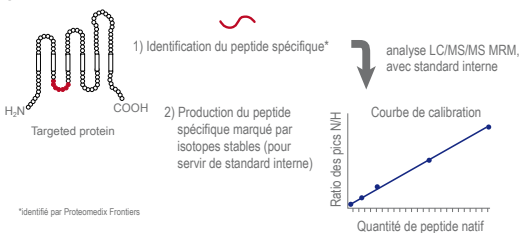
Principe

Après avoir recueilli votre échantillon, la membrane doit être isolée et les protéines solubilisées. Les protéines sont ensuite alkylées, précipitées et digérées avec de la trypsine (les enzymes sont fournies dans les kits MS2Plex®). Ces étapes de préparation sont vérifiées en utilisant une protéine de suivi brevetée qui permet de valider les étapes de purification et de digestion enzymatique.

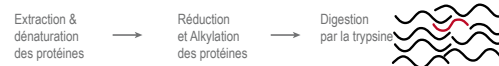
Les peptides générés sont mélangés avec des standards internes (peptides marqués avec les ¹³C ou ¹⁵N à une concentration connue et précise, identique à celle incluse dans les standards de calibration) avant l'injection dans le système LC-MS / MS.

Un ensemble de standards peptidiques est également fourni pour permettre la construction d'une courbe de calibration, ainsi qu'un ensemble de contrôles de qualité à grande (0,8 x LSDQ), Moyenne (0,5 x LSDQ (*)) et faible (2 x LLOQ (**)) concentration.

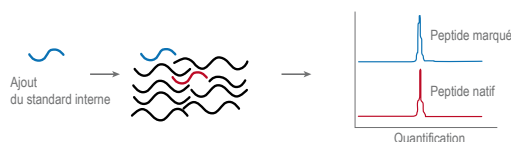
Identification du peptide spécifique et production d'une courbe de calibration



Préparation de l'échantillon



Analyse de l'échantillon





Les tests spécifiques aux transporteurs ABC

Les protéines transporteurs ABC (ATP Binding Cassette) sont l'une des plus importantes de protéines paralogue. Elles sont présentes dans toutes les espèces et jouent une grande variété de rôles physiologiques. Dans les micro-organismes, les transporteurs ABC sont au cœur de la résistance aux antibiotiques et aux antifongiques, tandis que chez l'homme, beaucoup sont associés à des maladies génétiques et à la résistance aux médicaments contre le cancer.

Elles ont une importance particulière dans les études ADMET.

Stabilité : 6 mois
Stockage : -80°C
Condition d'envoi : Carboglace
Quantité d'échantillo : 50 µg de protéine totale

Produit	Spécificité	Limite de quantification	Réf.	Qté
MDR1 (Human) MS2Plex® assay kit	Humain 100% Singe 100% Souris 0%	0,15 fmol/µg Protéine	T05028	24 déterminations
BCRP (Human) MS2Plex® assay kit	Humain 100% Singe 100% Souris 0%	0,75 fmol/µg Protéine	T05001	24 déterminations

Les tests spécifiques aux transporteurs SLC

Les protéines de transport de solutés (Solute carrier Protein : SLC) sont une grande famille (51) de transporteurs facilitant le transport de petites molécules (endogènes et xénobiotiques) à travers la membrane plasmique et cellulaire autrement que par diffusion ou par co-transport endogène des ions (organiques) pour fournir la force motrice. Parmi la super-famille de SLC, les polypeptides transporteurs d'anions organiques (OATPs), les transporteurs d'anions organiques (EAE) et les transporteurs de cations organiques (PTOM) sont fonctionnellement bien caractérisés et étudiés pour leur implication dans la physiologie, la physiopathologie et pharmacologie.

Stabilité : 6 mois
Stockage : -80°C
Condition d'envoi : Carboglace
Quantité d'échantillo : 50 µg de protéine totale

Produit	Spécificité	Limite de quantification	Réf.	Qté
CATP1B1 (Human) MS2Plex® assay kit	Humain 100% Singe 100% Souris 0%	0,15 fmol/µg Protéine	T05002	24 déterminations
CATP1B3 (Human) MS2Plex® assay kit	Humain 100% Singe 100% Souris 0%	2,25 fmol/µg Protéine	T05003	24 déterminations
CCT2 (Human) MS2Plex® assay kit	Humain 100% Singe 100% Souris 0%	0,30 fmol/µg Protéine	T05004	24 déterminations
CAT1 (Human) MS2Plex® assay kit	Humain 100% Singe 100% Souris 0%	0,30 fmol/µg Protéine	T05005	24 déterminations
CAT3 (Human) MS2Plex® assay kit	Humain 100% Singe 100% Souris 0%	0,30 fmol/µg Protéine	T05006	24 déterminations



Les tests spécifiques aux CYP450s

La biotransformation des xénobiotiques est le principal mécanisme de maintien de l'homéostasie pendant l'exposition de l'organisme à des molécules étrangères telles que des médicaments. Ce mécanisme est réalisé par un nombre limité d'enzymes avec de larges spécificités de substrat. Les réactions catalysées par des enzymes xénobiotiques de biotransformation sont divisés en deux phases, appelés phase I et phase II, conduisant à une augmentation de l'hydrophilie des xénobiotiques, améliorant grandement leur élimination.

Parmi les enzymes de biotransformation de phase I, les cytochromes P450 (CYP450) occupent le premier rang en terme de polyvalence d'oxydation catalytique et de détoxification : ils peuvent ou non prendre en charge un grand nombre de xénobiotiques, eux mêmes détoxifiés ou non par des enzymes de phase II.

Étant la principale voie d'élimination de nombreux médicaments, les enzymes du CYP450 jouent un rôle très important dans la détoxification des xénobiotiques, mais peuvent aussi conduire à des métabolites toxiques ou tumorigènes.

Produit	Spécificité	Limite de quantification	Réf.	Qté
CYP1A2 (Human) MS2Plex® assay kit	Humain 100% Singe 100% Souris 0%	0,75 fmol/µg Protéine	T05007	24 déterminations
CYP2A6 (Human) MS2Plex® assay kit	Humain 100% Singe 100% Souris 0%	0,75 fmol/µg Protéine	T05008	24 déterminations
CYP2B6 (Human) MS2Plex® assay kit	Humain 100% Singe 100% Souris 0%	0,75 fmol/µg prot. Protéine	T05009	24 déterminations
CYP2C8 (Human) MS2Plex® assay kit	Humain 100% Singe 100% Souris 0%	0,75 fmol/µg prot. Protéine	T05010	24 déterminations

Produit	Spécificité	Limite de quantification	Réf.	Qté
CYP2C9 (Human) MS2Plex® assay kit	Humain 100% Singe 100% Souris 0%	0,75 fmol/µg Protéine	T05011	24 déterminations
CYP2C19 (Human) MS2Plex® assay kit	Humain 100% Singe 100% Souris 0%	0,75 fmol/µg Protéine	T05012	24 déterminations
CYP2D6 (Human) MS2Plex® assay kit	Humain 100% Singe 100% Souris 0%	0,75 fmol/µg Protéine	T05013	24 déterminations
CYP3A4 (Human) MS2Plex® assay kit	Humain 100% Singe 100% Souris 0%	0,75 fmol/µg Protéine	T05014	24 déterminations



Détection des Glyco-, Phospho-, Lipo- Protéines

De nombreux réactifs de biotinylation, de marquage fluorescent et même de crosslinking sont utilisables pour détecter les groupements -CHO et -OH, les séquences lipidiques ou phosphorées présentes dans les Glyco-, Phospho-, ou Lipo- Protéines, ou également pour détecter des résidus spécifiques.

Par exemple l'AMF **#M1161A**, le DTAF **#46732A** ou les FITC et cadavérines permettent la détection des glycoprotéines. L'Hydrazide (ABH **#UP87750A**) réagit avec les groupements cis-diols des carbohydrates des glycoprotéines. L'HPG **#UP36862A** réagit avec l'arginine et est visualisé à 340 nm. Les groupements photoréactifs sont non spécifiques, et sont donc utilisés pour dériver les molécules "difficiles" (i.e. stéroïdes). Le 4NBA **#BL9650** détecte les groupements hydrazine/hydrazide, le 2HP **#019022** détecte les groupements aldéhyde. Les sondes fluorescentes Phosphoramidite réagissent avec les groupes phospho des phosphoprotéines. Les crosslinkers deutérés sont utilisables pour les dérivatisations avant analyse en masse.

Ci-après sont décrits des réactifs et kits pour les détections des Glyco-, Phospho-, ou Lipo-Protéines

Détections des Glycoprotéines

De nombreuses protéines natives présentent des glycosylations post-transcriptionnelles. Ces structures sont dépendantes d'espèce et de type cellulaire. Les caractérisations des complexes oligosaccharidiques des glycoprotéines sont complexes et longues.

Nous vous proposons des kits d'analyse simples :

Le **kit Carbohydrate Analysis/Detection** permet d'estimer et de comparer rapidement la composition en carbohydrates. Le protocole consiste en une élimination enzymatique des oligosaccharides de la protéine native (ou d'un mélange de sucres réduits), une amination réductrice des sucres et du marquage fluorescent covalent avec le 1,5-EDANS, suivi d'une analyse des glycamines obtenus par CCM en 2 dimensions (2D-CCM) ou une autre technique. Les électrophorèses en gel de polyacrylamides des oligosaccharides marqués sont plus sensibles.

Les avantages d'utiliser le 1,5 EDANS sont le très faible niveau de détection, sa solubilité dans l'eau, son pH de fluorescence invariante, sa stabilité, sa fluorescence distincte de celle des chromophores protéiques et la possibilité de le détecter en chromatographie en phase normale. Comparé à l'ANTS le 1,5 EDANS présente les avantages :

Son amine primaire nucléophile est plus réactif que l'amine aromatique de l'ANTS

Il est moins polaire ce qui autorise un plus grand nombre d'applications pour un plus grand nombre de carbohydrates.

Produit	Réf.	Qté
Carbohydrate Analysis/Detection Kit (EDANS based)	FP-CG4891	1 kit
Le Kit contient le réactif fluorescent 1,5-EDANS, l'agent réducteur, les solvants pour CCM. Lecture : $\lambda_{abs}/\lambda_{em}$: 335/493 nm.		
Glycoprotein Carbohydrate Estimation Kit	777840-23260	500 mg kit
Contenu du kit : Sodium meta-Periodate -500mg, réactif de détection des Glycoprotéines (500 mg), tampon de dosage des Glycoprotéines (250 ml) et les standards de Glycoprotéines (5-protein kit) qsp 60 tests en tube ou 250 en micro-plaques		
Glycoprotein Detection Reagent	L77480-23262	1 g
Glycoprotein Standards Set	L77470-23259	5-protein kit
Contenu du kit : Lysozyme (2,5 mg), BSA (2,5 mg), Ovalbumine (2,5 mg), Apo-transferrine (2,5 mg), Fetuine (0,25 mg) et alpha-Acid Glycoprotéine (0,25 mg). qsp préparation de la courbe standard d'estimation des carbohydrates des glycoprotéines		



Lectines pour dosage des Glycoprotéines

Des lectines fluorescentes sont proposés par FluoProbes® pour des dosages fluorescents. Voir la section "Marquage cellulaire - lectines fluorescentes"

Purification et marquage des Glycosides

Demandez à Interbiotech@interchim.com les produits pour purifier et marquer les glycoprotéines. Exemple : **GlycoPrep Preparation/labeling/Purification Kits** (Glycoside digestion + labeling + clean-up pour analyses par MS ou HPLC)

Dosage du Glucose

Le kit Glucose Colorimetric Assay est un outil simple, reproductible et sensible de dosage du glucose dans le plasma, le sérum et l'urine.

- Le dosage (Réf. **10009582**) est basé sur la réaction glucose oxydase - peroxide.
- Le kit (Réf. **BD1850**) est basé sur l'hexokinase, il comporte une incubation de 5 min à 37°C avec lecture à 340 nm, et a une sensibilité de 2 mg/dl linéaire jusqu'à 500 mg/dl.

Principe du test 10009582

Le glucose est oxydé en δ-gluconolactone. Dans le même temps la glucose-oxydase Flavin Adénine Dinucléotide (FAD) dépendante est réduite. La forme réduite de la glucose oxydase est régénérée dans sa forme oxydée par l'oxygène moléculaire avec production de peroxyde d'hydrogène. Finalement, avec l'HRP comme catalyseur le peroxyde d'hydrogène réagit avec le 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid et le 4-aminoantipyrine pour former un marqueur rose d'absorption maximum à 514 nm.

Produit	Réf.	Réf.
Glucose Colorimetric Assay Kit Contient le réactif GO, un tampon et un standard glucose 1000 mg/dl (300 µl).	10009582	Kit 192 tests
Glucose Liqui-UV Assay (Hexokinase based) Contient le réactif HK, un tampon et un standard 100 mg/dl (BD185c, 3ml).	BD1850	Kit 250 ml
	BD185c	Kit 3 ml

Glycosides et Inhibiteurs de Glycosides

Produit	Réf.
1-Deoxymannojirimycin (hydrochloride) Inhibiteur sélectif de l'α-mannosidase ; CAS : 73465-43-7	17178
Glycogen Phosphorylase Inhibitor Inhibiteur de la glycogène phosphorylase ; CAS : 648926-15-2	17578
SR 8278 Antagoniste du REV-ERBα ; CAS : 1254944-66-5	17000
2-Chloro-4-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside Substrat chromogénique ; CAS : 119047-14-2	16527
D-Mannoheptulose Inhibiteur des glucokinases et hexokinases; CAS: 3615-44-9	16548
Castanospermine Inhibiteur des α- et β-glucosidases ; CAS : 79831-76-8	11313
CMP-Sialic Acid (sodium salt) Nucléotide sucré ; CAS : 1007117-62-5	16404
1-Deoxynojirimycin (hydrochloride) inhibiteur de l'α-glucosidase I et II ; CAS : 73285-50-4	10011718
3'-Sialyllactose (sodium salt) Oligosaccharide abondant du lait ; CAS : 128596-80-5	16617
Deoxynojirimycin Tetrabenzyl Ether Exclusive Molécule de départ pour les inhibiteurs de la glucosylcéramide synthase ; CAS : 69567-11-9	10011914
2-deoxy-2-fluoro L-Fucose Analogue du fucose fluoriné ; CAS : 70763-62-1	17171
Amphotycin Lipopeptide antibactérien ; CAS : 1402-82-0	17091
L-(-)-Fucose Monosaccharide important pour la fonction immune ; CAS : 2438-80-4	16479
5-(galactosylhydroxy)-L-Lysine Marqueur spécifique de la résorption osseuse ; CAS : 32448-36-5	10010255

Glycosides et Inhibiteurs de Glycosides (suite)

Produit	Réf.
4-Nitrophenyl-N-acetyl- α -D-galactosaminide Substrat chromogénique de la N-acetylgalactosaminidase ; CAS : 23646-68-6	16755
1-Deoxygalactonojirimycin (hydrochloride) Inhibiteur réversible des α -galactosidases comme molécule chaperon ; CAS : 75172-81-5	17179
Sophorose Composé disaccharidique des sophorolipides ; CAS : 20429-79-2	14717
Concanavalin A Lectine de plante affectant l'agglutination cellulaire, la mitogénèse et l'apoptose ; CAS : 11028-71-0	14951
β -D-Glucose Monosaccharide cyclique ; CAS : 492-61-5	16775
D-(+)-Raffinose (hydrate) Trisaccharide naturel ; CAS : 17629-30-0	16773
3-deoxy Glucosone Précurseur de la glycation avancée des produits finaux ; CAS : 4084-27-9	16347
N-Acetylneuraminic Acid Acide sialique abondant ; CAS : 131-48-6	16091
3-deoxy Galactosone Produit de dégradation du galactose ; CAS : 4134-97-8	16801
1-thio- β -D-Glucose (sodium salt) Glucose avec un groupement thiol réactif ; CAS : 10593-29-0	16485
3,4,6-Tri-O-benzyl- β -D-Mannopyranose 1,2-(methyl orthoacetate) Intermédiaire de synthèse dans les réactions de glycosylation ; CAS : 16697-49-7	16405
ChREBP Blocking Peptide Pour les détections immunochimiques de ChREBP	10006790
ChREBP DBD (human recombinant) Carbohydrate Response Element-binding Protein DNA Binding Domain	10009524
Peracetylchitobiose Forme de chitobiose ; CAS : 41670-99-9	16379

Détection des Phosphoprotéines

Produit	Réf.	Qté
CytoPhos Endpoint Phosphate Assay Mesure du phosphate en solution	NJQ720-BK054	1 test
Phosphate Assay Kit	SGA510-55R-1400	500 tests
Phosphate Fluorometric Assay Kit	SGN740-55R-1404	100 tests
Picolorlock Gold 2500/6250 Assays - phosphate detection reagent	YQ6981-303-0625	625 tests
	YQ6981-303-0125	2500 tests

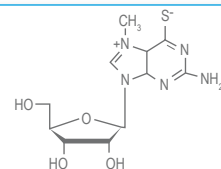
Le dosage PiColorLock est basé sur le changement d'absorbance du vert de malachite en présence de complexe de phosphomolybdate. Contrairement à la plupart des dosages au vert de malachite, il donne un signal final stable et est plus sujet à précipiter. De plus, en agent stabilisant spécial garantit l'utilisation du réactif avec des substrats labiles en milieu acide.

Phosphate Assay Mesg Assay Reagent	JQ8070-21600	5 mg
------------------------------------	--------------	------

Le kit PhosphoWorks™ Colorimetric MESH Phosphate Assay sert à mesurer l'activité de toute enzyme générant des Pi avec le MESH. Principe : en présence de phosphate inorganique, le MESH est converti en 2-amino-6-mercapto-7-méthylpurine par la purine nucléoside phosphorylase (EC 2.4.2.1) avec une absorption décalée vers le rouge. Cette caractéristique est utilisée pour quantifier par spectrophotométrie le phosphate.

Phosphoprotein Phosphate Estimation Assay Kit	R09430-23270	100 ml Kit
---	--------------	------------

Contenu du kit : réactif Malachite green : réactif Malachite Green, contrôle Phosvitin, et tampon, en quantité suffisante pour 500 tests en tube ou 1920 tests en µplaque. Dosage semi-quantitatif de p-Ser et p-Thr (pas de p-Tyr).



Structure chimique du MESH



Détection des Lipoprotéines et Lipides

Produit	Réf.	Qté
ADIFAB, fatty acid indicator	FP-040791	200 µg
ADIFAB est une sonde fluorescente qui détecte les acides gras	FP-040792	1 mg
ADIFAB2, fatty acid indicator	FP-BB6681	200 µg
ADIFAB amélioré	FP-BB6682	1 mg

Kits d'enrichissement en protéines

Produit	Réf.	Qté
Graphite Spin Columns	FO820-88302	30 u
Colonnes de 10 mg de résine. Purifie et concentre efficacement les phosphopeptides hydrophiles. Parfait pour améliorer les analyses en Spectrométrie de Masse de protéines digérées, de fractions obtenues par échange de cation fort et de phosphopeptides obtenus par affinité sur TiO2 et immobilized metal affinity chromatography (IMAC).		
Ubiquitin Enrichment Kit	RJ6010-89899	1 kit
Aide à l'isolement de protéines conjuguées polyubiquitine. 1 kit permet de traiter 15 échantillons de 0,15 mg de protéine chacun. Protocole de 45 minutes plus 2 heures d'incubation d'échantillon. Contenu du kit : Contrôle positif de Polyubiquitine (50 µl), anticorps Anti-Ubiquitin (rabbit anti-serum) (50 µl), Résine d'affinité Polyubiquitin (300 µl), Tampon. TBS (500 ml) et Colonne spin et accessoires (1 u)		
Glycoprotein Isolation Kit, ConA	89804-89804	1 kit
Isolement des protéines glycosylées par affinité avec la Concanavaleine A. 1 kit permet de traiter 10 échantillons de 640 µl ou 1-1,5 mg de protéines. Contenu du kit : Résine d'affinité à la Concanavaleine A (1,1 ml résine à 50 %), tampon de lavage (5 x 6,5 ml), Tampon d'éluion (5 ml) et Colonne spin et accessoires (10 u)		
Glycoprotein Isolation Kit, WGA	RJ5860-89805	1 kit
Isolement des protéines glycosylées par affinité avec la lectine WGA, 1 kit permet de traiter 10 échantillons de 640 µl ou 1 - 1,5 mg de protéines. Contenu du kit : Résine d'affinité WGA (1,1 ml résine à 50 %), tampon de lavage (5 x 6,5 ml), Tampon d'éluion (5 ml) et Colonne spin et accessoires (10 u)		

Voir également la section Biopurification et la préparation d'échantillon.



Dosage de protéines d'adhésion

Sircol™ Soluble Collagen Assay

Le dosage Sircol™ est une méthode quantitative basée sur la liaison d'un colorant marqueur du collagène pour l'analyse de collagènes de tissus de mammifère soluble en milieux acides et de collagènes relargués dans les milieux de culture.

Permet le dosage de collagènes de type I à IV soluble en milieux salins, acides et peptiques.

- Gamme de dosage : 0 - 50 µg de collagène
- Temps de dosage : 1 heure
- Sensibilité : 2,5 µg de collagène.

Très simple à réaliser :

- Mélanger échantillon et l'échantillon et le réactif colorimétrique.
- Centrifuger l'échantillon et laisser décanter le colorant non lié.
- Récupérer le marqueur lié en utilisant le Sircol. Mesurer l'absorbance en cuvette ou en plaque.



(a)

(b)

(c)

(a) Gamme de collagène standard, petites quantités 0 - 5 - 10 & 15 µg et grande quantité 0 - 15 - 30 & 45 µg, après ajout du mélange avec le réactif colorimétrique, centrifugation et élimination du colorant non lié. (duplicat non montré).

(b) Petite gamme après ajout de 250 µl de réactif alcalin, grande gamme après ajout de 1000 µl de réactif alcalin.

(c) Aliquots (200 µl) transférés dans des microplaques 96 puits.

Produit	Réf.	Qté
Sircol™ Soluble Collagen Assay Kits	U59610	1 kit (120 assays)
	U59611	1 kit (475 assays)
Kit # U59610 : Solution de colorant Sircol (120 ml), Réactif alcalin (120 ml), Réactif précipitant du collagène soluble en sel (12,5 ml), Collagène Standard soluble en solution aqueuse (5 ml à 1,00 mg/ml)		
Acid-soluble Collagen Standard	BM1731	3 x 5 ml
Ampoules stériles de collagène soluble en milieu acide (1,00 mg/ml)		

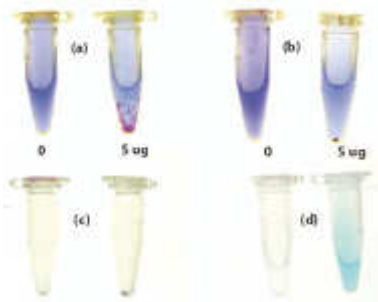
Sircol™ est une Trademark de Biocolor Ltd.



Dosage Blyscan™ des Glycosaminoglycanes

Le Blyscan™ Assay est une méthode quantitative basée sur la liaison de marqueurs pour l'analyse des protéoglycanes sulfatés (sPG) et des glycosaminoglycanes (sGAG), activateurs et potentiateurs de facteurs de croissance.

- Temps de dosage : 1 heure
- Sensibilité : 0,5 µg de glycosaminoglycane sulfaté



Dosage des extraits salins de sGAG soluble de :

- Etudes *in vitro* de composés de la matrice extra cellulaire qui sont relargués par les cellules vivantes dans le milieu de culture
 - Cartilages élastique, fibreux et hyalins, élastique
 - Tissus connectifs contenant des sGAG
 - Tumeurs solides
 - Extraits cellulaires et tissulaires
 - Aliquots de protéines séparées par chromatographie
 - Fluides amniotiques et l'urine.
- Le dosage peut aussi détecter et doser les enzymes de dégradation des sGAG et les ratios N- et O-sulfated glycosaminoglycane.

- (a) 0 et 5µg de sGAG et de Blyscan, (après 15 minutes de mélange).
 (b) 30 min de mélange et centrifugation, (noter le précipitat du complexe sGAG-colorant).
 (c) Le colorant non lié est éliminé
 (d) Colorant décroché du sGAG par le réactif de dissociation.

Produit	Réf.	Qté
Blyscan™ Sulfated Glycosaminoglycan Assay kit	AA4880-B1000	1 kit (120 assays)
	AA4881-B3000	1 kit (475 assays)
Kit Blyscan1000 : Réactif Blyscan (120 ml), Réactif de dissociation (120 ml), standard de Glycosaminoglycanes (5 ml de 100 µg/ml de Ch-4-SO4), réactif de nitration (15 ml)		
Glycosaminoglycan Standard	BM1741-B1010	3 x 5 ml
Ampoules stériles de chondroïtin-4 sulphate (100 µg/ml)		
sGAG Isolation & Concentration pack	BL1751-B1015	1 kit (100 runs)
Contenu : tampon d'acetylpyridinium chloride et de lithium chloride 2M (qsp 100 échantillons)		

Blyscan™ est une Trademark de Biocolor Ltd



Fastin™ Elastin Assay

Le kit Fastin™ Assay est une méthode de quantification colorimétrique pour l'analyse du relargage de l'élastine dans le milieu de culture ou extrait de matériel biologique.

- Temps de dosage : 4 heures
- Sensibilité : 5 µg d'Elastine



Protocole :

1. Mélanger l'Elastine et le colorant.
2. Centrifuger le complexe Elastine-colorant ; éliminer le surnageant pour écarter le marqueur non lié.
3. Récupérer le complexe Elastine - colorant, ajouter le réactif de dissociation et centrifuger.

Formes d'Elastin pouvant être doser :

- Tropoélastine soluble
- Elastine lathyrogénique
- Elastine insoluble

De plus l'activité de l'Elastase peut être mesurée en utilisant l'Elastine comme substrat.

Produit	Réf.	Qté
Fastin™ Elastin Assay kit	Q99550	1 kit (120 assays)
	Q99551	1 kit (475 assays)
Kit Fastin : marqueur Fastin (120 ml), réactif de Précipitation (120 ml), réactif de Dissociation du marqueur (120 ml), α-Elastin Standard (5 ml à 100 µg/ml)		
α-Elastin Standard	BM1761	3 x 5 ml
Ampoules stériles d'α-elastine (100 µg/ml)		

Fastin™ est une Trademark de Biocolor Ltd

Hemoglobin Assays

Produit	Réf.	Qté
Hemoglobin Colorimetric Assay Kit	IFR680-700540	1 kit
560 - 590 nm, Sensibilité 3 µM (0,005 g/dl)		
Hemoglobin Assay Kit	FLG100-KA1616	1 kit
Dosage colorimétrique d'hémoglobine totale à 400 nm, pour sang, plasma, sérum, urine, échantillons de 50 µl, 0,9-200 mg/dl		
Mouse Hemoglobin A1c (HBA1C) Assay Kit	RK5420-8031	96 tests
Glycated Hemoglobin (GHb) Assay Kit	JZW660-CSB-CH027877	15 tests
Human MetHemoglobin, Mhb Elisa Kit	CSB-E09493H	96 tests
Mouse MetHemoglobin, Mhb Elisa Kit	CSB-E13605M	96 tests
Pig MetHemoglobin, Mhb Elisa Kit	CSB-E04909P	96 tests
Human Free Haemoglobin (F-Hb) Elisa Kit	MNI71	96 tests
Mouse Free Haemoglobin (F-Hb) Elisa Kit	MPR01	96 tests

Immunoglobulins (IGs) Assays

Produit	Réf.	Qté
MOUSE IgG Easy-Titer Assay Kit	738920-23300	
RABBIT IgG Easy-Titer Assay Kit	L77500-23305	
HUMAN IgG Easy-Titer Assay Kit	R67380-23310	
HUMAN IgG (Gamma Chain) Easy-Titer Assay Kit	BH3010-23325	
HUMAN IgM Easy-Titer Assay Kit	FN0110-23315	
Rapid Elisa MOUSE MAB Isotyping Kit	CCZ290-37503	60 tests
Rapid Mouse Antibody Isotyping Kit	RK1580-26178	10 tests
Rapid Mouse Antibody Isotyping Kit - plus KAPPA et LAMBDA	RK1590-26179	10 tests

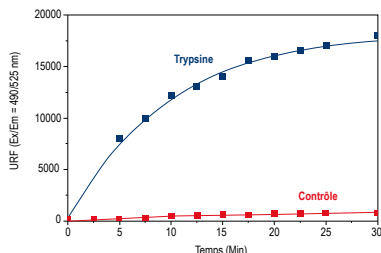
Produits liés

Sondes pour investigations en pathologie

Produit	Réf.	Qté
Amido Black 10B (Bleu foncé)	07793A	25 g
Biebrich Scarlet Stain solution (violet)	BJ0001	200 ml
Mayer's Hematoxylin solution	82342A	500 ml
Ponceau (rouge, peut être combiné au marquage nucléaire par l'hématoxylin)	050261	500 ml



Activité Trypsique mesurée avec le kit Amplite™ Universal Fluorimetric Protease Activity Assay.



Le substrat est incubé avec 1 unité trypsique dans le tampon du kit. Les puits témoins ne contiennent que du substrat sans Trypsine. La fluorescence est mesurée dès que la trypsine est ajoutée. Les échantillons sont faits en triplicat.

Mesure des protéases contaminantes

Le kit Amplite™ Universal Fluorimetric Protease Activity Assay est parfait pour réaliser en routine le dosage de protéases ou pour déterminer la présence de protéases contaminantes dans les échantillons protéiques.

Le kit contient un conjugué Caséine fluorescent lequel est démontré comme étant un substrat générique pour un large panel de protéases (e.g. trypsine, chymotrypsine, thermolysine, protéinase K, protéase XIV et elastase).

Tant que le substrat est intact, la fluorescence du marqueur vert est quenchée du fait du fort taux de couplage. Lors de l'hydrolyse protéasique, les molécules fluorescentes ne sont plus liées qu'à des fragments peptidiques, le quenching disparaît donc au profit d'une fluorescence intense. L'intensité de fluorescence est directement proportionnelle à l'activité des protéases. Le test se fait dans des micro-plaques de 96 ou 384 puits et est automatisable. Le signal est mesurable avec un lecteur de micro-plaque à fluorescence à des longueurs d'onde d'excitation et d'émission de 490 et 525 nm avec les filtres FITC.

Produit	Ex (nm)	Em (nm)	Réf.	Qté
Generic Protease Activity Probes and Assay Kit				
Amplite™ Universal Fluorimetric Protease Activity Assay Kit	494	521	13500	500 tests
Casein, FITC-conjugated	494	521	13440	5 mg
Casein, TAMRA-conjugated	545	576	13441	5 mg

Caspases

Une des caractéristiques des dernières étapes de l'apoptose est l'activation des caspases. Les membres de la famille des caspases (CED-3/ICE), protéases spécifiques des cystéine/acide aspartique, sont des médiateurs clés dans les processus biochimiques associés à l'apoptose. La caspase coupe la protéine après un enchaînement de 3 ou 4 acides aminés suivis d'un acide aspartique. Les caspases protéasiques sont inactives nativement. Elles sont activées suite au relargage de leur inhibiteur ou après liaison d'un co-facteur.

AAT Bioquest propose une large gamme d'inhibiteurs de caspases, de substrats chromogéniques ou fluorogéniques des caspases et de kits de dosage des caspases. Les substrats chromogéniques sont basés sur la 4-nitroaniline (pNA).

AAT Bioquest est la seule société à proposer des substrats fluorescents multicolores : respectivement 7-Amino-4-méthylcoumarin (AMC), 7-Amino-4-trifluorométhyl-coumarin (AFC), Rhodamine 110 (R110) et ProRed™.

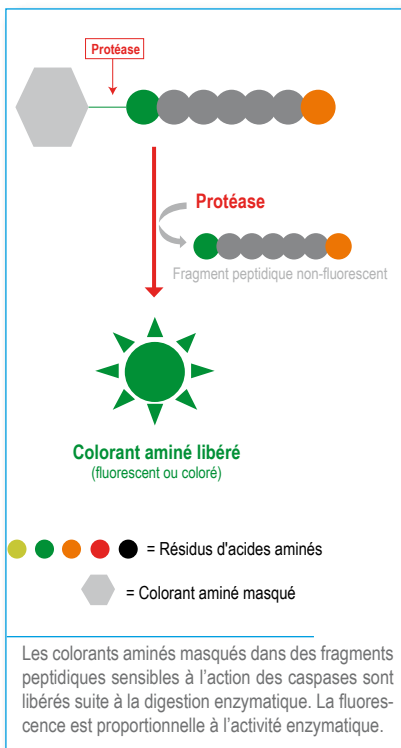
Les substrats de la caspase marqués au ProRed™ sont extrêmement utiles pour le criblage des inhibiteurs de caspase du fait de leurs longueurs d'onde d'excitation et d'émission beaucoup plus longues, qui éliminent les interférences d'autofluorescence de la banque de composés.

La séquence peptidique DEVD est spécifique des caspases 3/7. Elle a été utilisée pour développer de nombreux substrats. Le substrat Z-DEVD-R110 est une bis-amide non fluorescente convertie en premier en monoamide fluorescent et ensuite en R110 beaucoup plus fluorescent (Exc/Em max. ~496/520 nm). Les substrats à R110 sont beaucoup plus sensibles que les substrats à la coumarine (e.g. AMC et AFC), mais ont une gamme dynamique beaucoup plus réduite, due à leur processus de coupure en 2 étapes.

Les substrats à la coumarine sont préconisés pour les études cinétiques, les substrats R110 pour les mesures de point final.

Les substrats ProRed™-DEVD sont très utiles pour le criblage des inhibiteurs des caspases 3/7.

Les peptides avec une séquence LEHD sont spécifiques des caspase 9. Les peptides avec une séquence DEVD et IETD sont spécifiques respectivement des caspase 3/7 et 8.

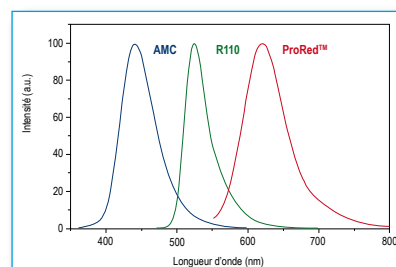




Détection des Caspases 3/7

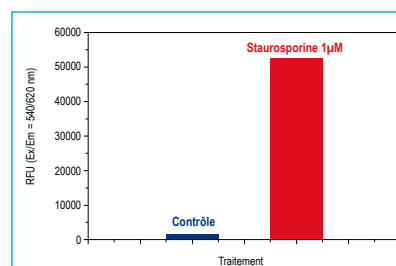
La caspase 3 (CPP32/apopain) est un effecteur clé de la chaîne de l'apoptose en amplifiant le signal des caspases initiatrices (tel que la Caspase 8) et en étant impliquée significativement dans la dissociation cellulaire. En plus de cliver d'autres caspases dans la cascade enzymatique, la caspase 3 coupe également la poly(ADP-ribose) polymérase (PARP), les protéines kinases dépendantes à l'ADN, la protéine kinase C δ et l'actine.

Le kit Cell Meter™ Caspase 3/7 Activity Apoptosis Assay est dédié au suivi de l'apoptose cellulaire en mesurant l'activation de la caspase 3. Celle-ci est largement reconnue comme un indicateur fiable de l'apoptose cellulaire puisque l'activation de la caspase 3 est nécessaire à l'initiation de l'apoptose. La caspase 3 coupe spécifiquement les protéines après la séquence Asp-Glu-Val-Asp (DEVD). Le Z-DEVD-ProRed™ 620 est le substrat fluorescent de l'activité de la caspase 3 utilisé pour le kit. La coupure du Z-DEVD-ProRed™ 620 par la caspase 3 génère une forte fluorescence ProRed™ mesurée à ~620 nm avec une excitation à ~530 nm. Le test est parfaitement reproductible et peut être automatisé sur toute plateforme HTS. 100 tests sont réalisés sur plaques 96 puits, 400 tests sur plaques 384 puits.



Spectres de fluorescence des AMC, R110 et ProRed™ en tampons aqueux (pH 7.0). Les substrats caspases AMC, R110 et ProRed™ sont parfaitement adaptés aux activités de multiplexage des caspases.

Produit	Rôle biologique	Ex (nm)	Em (nm)	Réf.	Qté
Réactifs de dosage des activités caspases					
Ac-DEVD-AFC	Fluorogenic Caspase 3/7 Substrate	380	500	13401	5 mg
Ac-DEVD-AMC	Fluorogenic Caspase 3/7 Substrate	351	430	13402	5 mg
Ac-DEVD-CHO	Caspase 3/7 Inhibitor	N/A	N/A	13403	1 mg
Ac-DEVD-pNA	Chromogenic Caspase 3/7 Substrate	408	N/A	13405	5 mg
Ac-IETD-AFC	Fluorogenic Caspase 8 Substrate	380	500	13410	5 mg
Ac-IETD-AMC	Fluorogenic Caspase 8 Substrate	351	430	13411	5 mg
Ac-IETD-CHO	Caspase 8 Inhibitor	N/A	N/A	13412	5 mg
(Ac-IETD) 2-R110	Fluorogenic Caspase 8 Substrate	498	520	13431	1 mg
Ac-LEHD-AMC	Fluorogenic Caspase 9 Substrate	351	430	13426	5 mg
(Ac-LEHD) 2-R110	Fluorogenic Caspase 9	498	520	13427	1 mg
Z-DEVD-AFC	Fluorogenic Caspase 3/7 Substrate	380	500	13420	5 mg
Z-DEVD-AMC	Fluorogenic Caspase 3/7 Substrate	351	430	13421	5 mg
Z-DEVD-pNA	Chromogenic Caspase 3/7 Substrate			13422	5 mg
Z-DEVD-ProRed™ 620	Fluorogenic Caspase 3/7 Substrate	534	619	13433	1 mg
(Z-DEVD) 2-R110	Fluorogenic Caspase 3/7 Substrate	498	520	13430	1 mg
Z-IETD-AFC	Fluorogenic Caspase 8 Substrate	380	500	13425	5 mg
Z-IETD-pNA	Chromogenic Caspase 8 Substrate	408	N/A	13413	5 mg
Z-IETD-ProRed™ 620	Fluorogenic Caspase 8 Substrate	534	619	13434	1 mg
Z-LEHD-ProRed™ 620	Fluorogenic Caspase 9 Substrate	534	619	13435	1 mg



Détection des activités de la caspase 3/7 dans des cellules Jurkat en utilisant le Z-DEVD-ProRed™ 620 (# 13433). Les cellules Jurkat ont été déposées le même jour avec 200 000 cellules/puits/90µl dans une plaque Costar 96 puits à bord noir/fond clair. Les cellules ont été traitées avec ou sans staurosporine 1 uM pendant 5 heures. La solution de dosage de la caspase 3/7 (100 µl/puits) a été ajoutée et incubée à température ambiante pendant 1 heure. L'intensité de fluorescence a été mesurée à Ex/Em = 540/620 nm.

Produit	Ex (nm)	Em (nm)	Réf.	Qté
Réactifs de dosage des activités caspases 3/7				
Amplite™ Fluorimetric Caspase 3/7 Assay Kit, Blue Fluorescence	351	430	13502	500 tests
Amplite™ Fluorimetric Caspase 3/7 Assay Kit, Green Fluorescence	498	520	13503	500 tests
Amplite™ Fluorimetric Caspase 3/7 Assay Kit, Red Fluorescence	534	619	13504	500 tests
Cell Meter™ Caspase 3/7 Activity Apoptosis Assay Kit, Blue Fluorescence	351	430	22795	200 tests
Cell Meter™ Caspase 3/7 Activity Apoptosis Assay Kit, Green Fluorescence	498	520	22796	200 tests
Cell Meter™ Caspase 3/7 Activity Apoptosis Assay Kit, Red Fluorescence	534	619	22797	100 tests
Cell Meter™ Caspase 3/7, 8 and 9 Activity Multiplexing Assay Kit, Triple Fluorescence	multicolore	multicolore	22820	3 x 100 tests



Détection de la Caspase 8

La caspase 8 joue un rôle important dans l'apoptose en tant qu'initiateur de la cascade d'activation des caspases. L'activation de l'enzyme elle-même est réalisée directement par l'interaction avec les récepteurs de surface cellulaire des ligands induisant l'apoptose. La protéase activée est impliquée dans le processus de relargage des cytochromes C depuis les mitochondries. Egalement, elle active la chaîne des caspases. La caspase 8 coupe la séquence peptidique IETD.

Produit	Ex (nm)	Em (nm)	Réf.	Qté
Kits Caspase 8 Activity Assay				
Cell Meter™ Caspase 8 Activity Apoptosis Assay Kit, Blue Fluorescence	351	430	22812	200 tests
Cell Meter™ Caspase 8 Activity Apoptosis Assay Kit, Green Fluorescence	498	520	22798	200 tests
Cell Meter™ Caspase 8 Activity Apoptosis Assay Kit, Red Fluorescence	534	619	22816	100 tests
Cell Meter™ Caspase 3/7, 8 and 9 Activity Multiplexing Assay Kit, Triple Fluorescence	multicolore	multicolore	22820	100 tests

Détection de la Caspase 9

La caspase 9 appartient à la sous-famille CED-3 jouant un rôle essentiel dans l'apoptose. Elle coupe la séquence peptidique LEHD. AAT Bioquest propose des substrats contenant la séquence LEHD, marqués aux pNA, AMC, AFC, R110 ou ProRed™.

Le kit Cell Meter™ Caspase 9 Activity Apoptosis Assay suit l'apoptose par dosage de l'activité de la caspase 9. Comme indicateur fluorogénique de l'activité caspase 9, le kit #22799 propose le substrat (Ac-LEHD)₂-R110 et le kit #22813 avec le substrat Ac-LEHD-AMC. La digestion du substrat (Ac-LEHD)₂-R110 génère une fluorescence verte intense alors que celle du substrat Ac-LEHD-AMC génère une fluorescence bleue. Les tests sont parfaitement reproductibles et peuvent être automatisés sur toute plateforme HTS. Ils sont utilisables pour quantifier l'activité de la caspase 9 activée ou pour visualiser les inhibiteurs de la caspase 9.

Produit	Ex (nm)	Em (nm)	Réf.	Qté
Caspase 9 Activity Assay Kits				
Cell Meter™ Caspase 9 Activity Apoptosis Assay Kit, Blue Fluorescence	351	430	22813	200 tests
Cell Meter™ Caspase 9 Activity Apoptosis Assay Kit, Green Fluorescence	498	520	22799	200 tests
Cell Meter™ Caspase 9 Activity Apoptosis Assay Kit, Red Fluorescence	534	619	22817	100 tests
Cell Meter™ Caspase 3/7, 8 and 9 Activity Multiplexing Assay Kit, Triple Fluorescence	multicolore	multicolore	22820	3 x 100 tests



Détection des Caspases 3/7, 8 et 9 par multiplexage

Le kit Cell Meter™ Caspase 3/7, 8 and 9 Activity Multiplexing Assay développé par AAT Bioquest permet de suivre simultanément l'activation de quatre caspases (caspase 3/7, 8 et 9) impliquées dans l'apoptose cellulaire en utilisant trois fluorescences distinctes. Les substrats fluorogéniques du kit sont DEVD-ProRed™, IETD-R110 et LEHD-AMC pour suivre respectivement l'activité des caspases 3/7, 8 et 9.

Après digestion des substrats, trois fluorophores sont libérés : ProRed™ (fluorescence rouge), R110 (fluorescence verte) et AMC (fluorescence bleue). Tous les trois sont visualisables ensemble grâce à leur parfaite séparation spectrale.

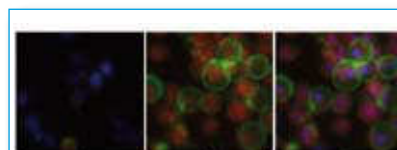
Produit	Réf.	Qté
Multiplexing Caspase Activity and Apoptosis Assay Kits		
Cell Meter™ Apoptotic and Necrotic Detection Kit, Triple Fluorescence	22840	100 tests
Cell Meter™ Apoptotic and Necrotic Detection Kit, Triple Fluorescence	22843	100 tests
Cell Meter™ Caspase 3/7, 8 and 9 Activity Multiplexing Assay Kit, Triple Fluorescence	22820	3 x 100 tests
Cell Meter™ Live Cell Caspase 3/7 and Phosphatidylserine Detection Kit, Triple Fluorescence	22850	100 tests

Tests de fixation des caspases

Lors de l'apoptose, l'activation des caspases est un événement important de l'initiation de l'apoptose. Les Cell Meter™ Live Cell Caspase Binding kits proposent l'utilisation d'indicateurs fluorescents non toxiques et perméables à la paroi cellulaire pour détecter l'activité des caspases 1, 2, 3/7, 6, 8, 9, 10 et 13. Une fois liés aux caspases, les réactifs fluorescents sont retenus dans la cellule. Le couplage évite aux caspases d'être catalysées mais ne stoppe pas le processus d'apoptose. Les kits sont utilisables en microscopie de fluorescence, en cytométrie de flux et en plaques de fluorescence.

Le Cell Meter™ Live Cell Caspase 3/7 and Phosphatidylserine Detection kit (#22850) détecte l'apoptose en mesurant simultanément les activités des Caspases 3/7 et Annexin V dans les cellules de mammifères. Les annexines sont des protéines se liant aux phospholipides membranaires en présence de calcium. Elles sont utilisées pour détecter les cellules en apoptose lesquelles expriment des phosphatidylserines (PS) à la surface de la cellule. La présence de ces PS est un indicateur universel des étapes initiales et intermédiaires de l'apoptose. Les conjugués Annexin V-marqueurs permettent la mesure de l'apoptose en suivant la translocation des PS. Le kit contient également du marqueur Hoechst pour marquer tous les noyaux cellulaires et de l'iodure de propidium pour marquer les cellules nécrosées.

Produit	Ex (nm)	Em (nm)	Réf.	Qté
Kits et tests Caspase Binding Based Live Cell Apoptosis Reagents				
Cell Meter™ Live Cell Caspase 1 Binding Assay Kit	492	514	20108	25 tests
Cell Meter™ Live Cell Caspase 2 Binding Assay Kit	492	514	20111	25 tests
Cell Meter™ Live Cell Caspase 3/7 and Phosphatidylserine Detection Kit	Multiple Color		22850	100 tests
Cell Meter™ Live Cell Caspase 3/7 Binding Assay Kit, Green Fluorescence	492	514	20100	25 tests
Cell Meter™ Live Cell Caspase 3/7 Binding Assay Kit, Red Fluorescence	556	574	20101	25 tests
Cell Meter™ Live Cell Caspase 6 Binding Assay Kit	492	514	20113	25 tests
Cell Meter™ Live Cell Caspase 8 Binding Assay Kit	492	514	20115	25 tests
Cell Meter™ Live Cell Caspase 9 Binding Assay Kit	492	514	20117	25 tests
Cell Meter™ Live Cell Caspase 10 Binding Assay Kit	492	514	20119	25 tests
Cell Meter™ Live Cell Caspase 13 Binding Assay Kit	492	514	20125	25 tests



La fluorescence montre l'augmentation de l'expression des caspases 3/7 (rouge, marquage au TF3-DEVD-FMK) et des Annexines V (Vert, marquage à l'Annexin V-iFluor™ 488) dans des cellules Jurkat induites avec 1 µM de staurosporine pendant 3 heures.

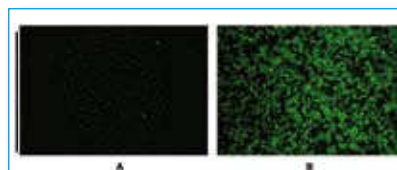
Les images de fluorescences des cellules (30000 cellules/puit) sont prises sous un microscope à fluorescence Olympus en utilisant les canaux des fluorophores DAPI, FITC, et TRITC.

Les photos individuelles des mêmes populations cellulaires ont été fusionnées comme décrit ci-après :

A : Cellules contrôles non induites.

B : Double marquage de cellules induites à la staurosporine pour les Caspases 3/7 (rouge) et Annexin V (vert).

C : Triple marquage de cellules induites à la staurosporine pour les caspases 3/7 (rouge), Annexin V (vert) et noyaux (bleu).



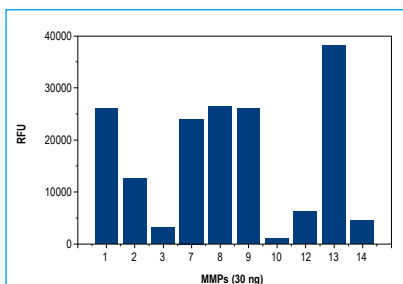
La photo montre l'augmentation de l'intensité de fluorescence du substrat FITC-C6-DEVD-FMK après ajout de 1 µM de staurosporine dans les cellules Jurkat. Les cellules sont incubées 1 h à 37°C avec le substrat FITC-C6-DEVD-FMK. L'intensité de fluorescence (200 000 cellules/puit) est observée sous un microscope utilisant le canal de la FITC.

A : contrôle

B : Traitement à la staurosporine.



Substrat seul pour mesure de l'activité des caspases



Détection de l'activité de MMP avec l'Amplite™ Universal Fluorimetric MMP Activity Assay Kit (Cat# 13510).

La fluorescence est mesurée 1h après le début de la réaction sur un lecteur de microplaques NOVOSTar aux longueurs d'ondes Ex/Em = 490/525 nm. Aux résultats de chaque puit est déduit le résultat du témoin contenant le substrat MMP Green™ mais pas de MMP. La sensibilité permet de détecter l'activité de l'ordre du sub-nanogramme de MMP (n=3).

Produit	Ex (nm)	Em (nm)	Réf.	Qté
mFluor™ 450-VAD-FMK	403	454	13475	25 tests
mFluor™ 510-VAD-FMK	414	508	13476	25 tests
Z-DEVD-ProRed™ 620	534	619	13433	1 mg
Z-IEHD-ProRed™ 620	534	619	13435	1 mg
Z-IETD-ProRed™ 620	534	619	13434	1 mg
FAM-VAD-FMK	492	518	FP-LQU780	25 tests
FITC-C6-DEVD-FMK	492	516	FP-JQ6931	100 µg
FITC-C6-LEHD-FMK	492	516	FP-JQ6941	100 µg
SRB-VAD-FMK [Sulforhodamine B-VAD-FMK]	556	575	FP-LQU800	25 tests
TF4-VAD-FMK	588	610	FP-LQU790	25 tests
Z-DEVD-AFC	380	500	FP-BXQ932	5 mg
Z-DEVD-AMC	351	430	FP-AM355A	5 mg
Z-IETD-AFC	380	500	FP-HG830A	5 mg

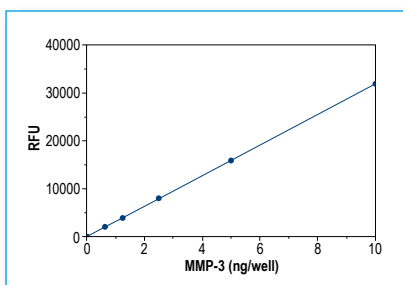
Matrix Metalloproteinases (MMP)

L'Amplite™ Universal Fluorimetric MMP Activity Assay Kit (#13510) à fluorescence verte repose sur la technique FRET (fluorescence resonance energy transfer) avec un peptide conjugué au couple Tide Fluor™ 2 (TF2)/Tide Quencher™ 2 (TQ2), comme indicateur générique de l'activité MMP. Ce kit permet de vérifier l'activité d'une enzyme MMP et de voir les inhibiteurs des MMP. Sur le peptide FRET intact, la fluorescence du TF2 est quenchée par le TQ2. Après digestion par les MMP en 2 fragments, la fluorescence du TF2 est libérée. Avec un excellent rendement de fluorescence et une plus grande longueur d'onde, la sonde TF2 est beaucoup plus sensible que le substrat de FRET EDANS/Dabcyl. La fluorescence est lue sur un lecteur de microplaque à fluorescence aux longueurs d'ondes Ex/Em = 490/525 nm.

Similaire au kit #13510, l'Amplite™ Universal Fluorimetric MMP Activity Assay Kit à fluorescence rouge utilise le couple Tide Fluor™ 3 (TF3)/Tide Quencher™ 3 (TQ3). Avec un excellent rendement de fluorescence et une plus grande longueur d'onde, la sonde TF3 présente moins d'interférences avec l'autofluorescence des échantillons testés et des composants cellulaires, et est également beaucoup plus sensible que le substrat de FRET EDANS/Dabcyl. La fluorescence du TF3, indépendante du pH, permet de travailler à tous pH physiologiques. Sa grande photostabilité lui garantit d'être une excellente sonde d'imagerie. De nombreux laboratoires utilisent ce kit pour le criblage des inhibiteurs de MMP en tant qu'anticancéreux. Le test peut également servir à la surveillance des cellules cancéreuses.

Les MMP-3 (Matrix Metalloproteinase-3) ou stromelysin-1 sont une famille d'endopeptidases dépendante au Zinc agissant dans la matrice extracellulaire. Ces enzymes sont responsables de la réticulation des tissus connectifs et sont importantes dans le remodelage osseux, le cycle menstruel et la réparation des tissus. Bien que le rôle des MMP dans certaines pathologies soit mal établi, elles ont une fonction clé dans le développement de l'arthrite et de l'invasion des tumeurs cancéreuses et des métastases.

L'Amplite™ Fluorimetric MMP-3 Activity Assay Kit (# 13512) permet de suivre l'activité du MMP-3. La séquence peptidique utilisée comme substrat est plus spécifique à l'hydrolyse du MMP-3 qu'aux autres MMP. Le kit sert également à la visualisation des inhibiteurs des MMP-3 quand une MMP-3 pure est utilisée. Le substrat peptide FRET Fluor™ 2 (TF2)/Tide Quencher™ 2 (TQ2) du kit sert comme indicateur d'activité des MMP-3. Sur le peptide FRET intact, le TF2 est quenché par le TQ2.



L'activité de l'enzyme MMP-3 est mesurée avec l'Amplite™ Fluorimetric MMP-3 Activity (# 13512, fluorescence verte). Des quantités de 1 ng MMP-3/puit sont détectées après incubation d'1h (n=3). L'activité endogène des MMP-3 varie en fonction de leur origine.



Après digestion par les MMP en 2 fragments, la fluorescence du TF2 est libérée. Avec un excellent rendement de fluorescence et une plus grande longueur d'onde, la sonde TF2 présente moins d'interférences avec l'autofluorescence des échantillons testés et des composants cellulaires, et est également beaucoup plus sensible que le substrat de FRET EDANS/Dabcyl. La fluorescence est lue sur un lecteur de microplaque à fluorescence 96 ou 384 puits. L'excitation à 488 nm du TF2 autorise une lecture du test sur tout instrument équipé d'un laser Argon et d'un filtre FITC.

Produit	Ex (nm)	Em (nm)	Réf.	Qté
Kits et réactifs du dosage de l'activité des MMP-3				
Amplite™ Fluorimetric MMP-3 Activity Assay Kit - Green Fluorescence	498	520	13512	100 tests
Amplite™ Universal Fluorimetric MMP Activity Assay Kit - Green Fluorescence	494	521	13510	100 tests
Amplite™ Universal Fluorimetric MMP Activity Assay Kit - Red Fluorescence	545	576	13511	100 tests
MMP Green™ Substrate	498	520	13520	1 mg
MMP Red™ Substrate	545	576	13521	1 mg
MMP-3 Green™ Substrate	498	520	13528	1 mg

Protéasome 20S

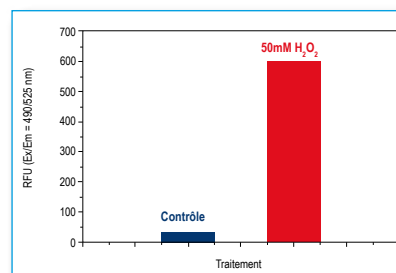
Le kit Amplite™ Fluorimetric Protéasome 20S Activity Assay est un kit de fluorescence homogène mesurant l'activité des protéases chymotrypsin-like associées au complexe du protéasome en culture cellulaire. Le substrat fluorescent est la séquence peptidique LLVY couplée au fluorophore R110. La coupure du substrat libère une fluorescence verte intense mesurée à 520-530 nm après excitation à 480-500 nm.

L'excitation maximum du R110 à 488 nm est parfaite pour un laser à Argon. Le test est reproductible et est facilement adaptable pour des essais en HTS pour évaluer l'activité du protéasome ou dénombrer les inhibiteurs en culture cellulaire ou en solution. Le kit a également été utilisé pour suivre des composés biologiques actifs interagissant avec le protéasome 20S.

Produit	Ex (nm)	Em (nm)	Fonction	Réf.	Qté
Kit pour la détection de la Protéasome 20S					
Amplite™ Fluorimetric Protéasome 20S Activity Assay Kit, Green Fluorescence	498	520	Protéasome 20S	13456	1 plate

Réactifs seuls pour la détection de la Protéasome 20S

(Ac-ANW)2 R110	498	520	Protéasome 20S-β5i	FP-CJF560	1 mg
(Ac-KQL)2 R110	498	520	Protéasome 20S-β2i	FP-GDA530	1 mg
(Ac-PAL)2 R110	498	520	Protéasome 20S-β1i	FP-GDA550	1 mg
(Ac-WLA)2 R110	498	520	Protéasome 20S-β5c	FP-GDA730	1 mg
Suc-LLVY-AMC	351	430	Protéasome 20S-β5c	FP-CJF550	1 mg
Suc-LLVY-Aminoluciferin	N/A	560	Protéasome 20S-β5c	FP-CJF540	1 mg
(Suc-LLVY)2 R110	498	520	Protéasome 20S-β5c	FP-CJF530	1 mg
(Z-LLE)2 R110	498	520	Protéasome 20S-β1c	FP-GDA540	1 mg



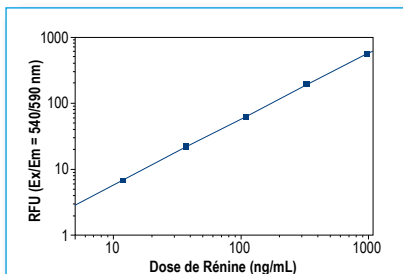
Détection de l'activité du protéasome avec le kit Amplite™ Fluorimetric Protéasome 20S Activity Assay dans des cellules Jurkat.

500 000 cellules/puit sont ensemencées le même jour dans des plaques Costar à fond clair et parois noires. Les cellules sont ou non traitées avec 50 mM d'H₂O₂ 30 minutes. 100 µl/puit du tampon de charge du kit sont ajoutés et incubés 3 heures sous CO₂ à 37°C. La fluorescence est mesurée à Ex/Em = 490/525 nm dans un lecteur de microplaque Gemini (Molecular Devices).



Renin

L'Amplite™ Fluorimetric Renin Assay Kit est destiné au dosage en HTS des inhibiteurs de rénine et de l'activité de celle-ci. Le peptide FRET TF3/TQ3 utilisé est un substrat propriétaire à AAT Bioquest. Après coupure du substrat par la Rénine, la fluorescence du FT3 est libérée. Celle-ci est mesurée dans un lecteur de microplaques à Ex/Em = 540/590 nm. Le test est environ 50 fois plus sensible que ceux basés sur les marqueurs EDANS/DABCYL. La sensibilité de l'Amplite™ Fluorimetric Renin Assay Kit est de l'ordre de 1 ng de rénine dans 100 µl de volume réactionnel.



Utilisation de l'Amplite™ Fluorimetric Renin Assay kit pour mesurer la réponse fluorimétrique aux doses de rénine dans une plaque 96 puits noire avec un lecteur de plaque Gemini (Molecular Device). Après 30 minutes d'incubation, 0,01 µg de rénine est détecté (n=3).

Produit	Ex (nm)	Em (nm)	Réf.	Qté
Renin Assay Kit				
Amplite™ Fluorimetric Renin Assay Kit, Red Fluorescence	545	576	13530	100 tests

Autres Dosages de Protéases

Les peptidases et protéases sont essentielles dans l'activation protéique, les régulations et signalisations cellulaires, mais également dans la génération des acides aminés lors des synthèses protéiques ou autres voies métaboliques. En règle générale, les peptidases agissent sur les petits peptides, et les protéases sur les grands peptides et les protéines. Les peptidases sont classées en exopeptidase, si leurs sites d'hydrolyse de fragments d'acides aminés sont aux extrémités des peptides et en endopeptidase, si les sites d'actions sont internes aux peptides. Les exopeptidases sont subdivisées en aminopeptidases s'ils hydrolysent à partir de l'extrémité amino, et en carboxypeptidases s'ils hydrolysent à partir de l'extrémité carboxy.

Bien que les propriétés spectrales des substrats fluorogéniques des peptidases et protéases et des produits d'hydrolyses soient prévisibles, l'utilité d'un substrat donné dépend de la cinétique d'hydrolyse, laquelle dépend à son tour de la concentration en substrat et de la séquence des acides aminés, du pH, de la température et de la présence ou non de cofacteurs dans le milieu.

Le 7-Amino-4-methylcoumarin (AMC) est un marqueur fluorescent bleu pour lequel les amides de peptides sont fréquemment utilisés comme substrat pour détecter les activités enzymatiques dans les cellules, homogénats et solutions. Le 7-Amino-4-trifluorométhylcoumarin (AFC) est un marqueur avec un spectre de longueurs d'onde un peu plus grandes que celui de l'AMC (exc./em. ~380/500 nm) à pH 7.

La Rhodamine 110 (R110) est un marqueur excitable dans le visible avec une absorption plus forte que celle de l'AMC. Les substrats conjugués au R110 sont généralement 2 acides aminés ou 2 peptides identiques couplés à un seul fluorophore. Les dérivés bis-amide R110 sont des substrats sélectifs et sensibles pour détecter l'activité protéasique en solution ou dans les cellules vivantes. Ces substrats sont 2 acides aminés ou 2 peptides, chacun couplés covalamment aux groupements aminés du R110. Ainsi, les absorptions et fluorescences du R110 sont supprimées. Après clivage par l'enzyme, le substrat bisamide non fluorescent est converti dans un premier temps en substrat monoamide, puis dans un deuxième temps en R110 beaucoup plus fluorescent. Les fluorescences des monoamides et R110 sont stables de pH 3 à pH 9. Les 2 ont des propriétés spectrales semblables à celle de la fluoescéine avec des Ex/Em = 496/520 nm, ce qui les rend compatibles avec la cytométrie de flux et les autres instruments équipés de laser argon. Les substrats basés sur le R110 peuvent également être utilisés avec les dosages spectrophotométriques du fait de leur absorption dans le visible (coefficient d'extinction à 496 nm : ~80,000 cm⁻¹ M⁻¹ en solution à pH 6).



Produit	Ex (nm)	Em (nm)	Réf.	Qté
Autres réactifs de dosages des Protéases				
Ala-AMC	351	430	FP-GDA510	5 mg
BOC-Val-Pro-Arg-AMC	351	430	FP-CJF720	5 mg
(BOC-VPR) 2 R110	498	520	FP-LQV430	1 mg
D-Ala-AMC	351	430	FP-GDA520	5 mg
D-VLK-AMC [D-Val-Leu-Lys-AMC]	351	430	FP-LQV440	5 mg
Gly-Pro-AMC	351	430	FP-RK5340	5 mg
MeO-Succ-Arg-Pro-Tyr-AMC	351	430	FP-CJF710	5 mg
Pro-AMC	351	430	FP-GDA500	5 mg
Z-Arg-AMC	351	430	FP-SNX320	5 mg
Z-Gly-Pro-AMC	351	430	FP-LQV450	5 mg
Z-Leu-Gly-Arg-Aminoluciferin	N/A	560	FP-GDA700	1 mg

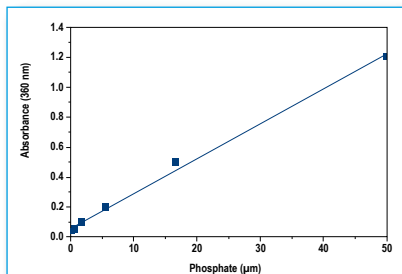
Standards de fluorescence pour dosage enzymatique

Produit	Ex (nm)	Em (nm)	Réf.	Qté
AFC [7-Amino-4-trifluoromethylcoumarin]	380	500	FP-30855B	1 g
AMC [7-Amino-4-methylcoumarin]	351	430	FP-103335	1 g
β -Trifluoromethylumbelliferone [7-Hydroxy-4-trifluoromethylcoumarin]	385	502	FP-JQ4040	100 mg
CF-MU [6-Chloro-8-fluoro-umbelliferone]	362	452	FP-GDA440	100 mg
3-Cyano-7-hydroxycoumarin	408	450	FP-47497B	25 mg
D-Aminoluciferin	N/A	560	FP-JQ6990	10 mg
DDAO [7-Hydroxy-9H-(1,3-dichloro-9,9-dimethylacridin-2-one)]	646	659	FP-M1367B	25 mg
Fluorescein, Disodium Salt	490	514	FP-40500A	100 mg
7-Hydroxy-4-methylcoumarin [4-Methylumbelliferone]	360	450	FP-04504J	1 g
Resorufin, Sodium Salt	571	585	FP-47570B	100 mg
R110 [Rhodamine 110]	498	520	FP-M1366C	1 g



ATPases et GTPases

Les réactifs et kits de détection de phosphate peuvent être utilisés pour tester les activités ATPase et GTPase et le criblage de leurs inhibiteurs. PhosphoWorks™ Assay Kits lumino-métrique de l'ATP peuvent également être utilisés pour détecter des ATPases. Les PhosphoWorks™ Luminometric ATP Assay Kits fournissent un protocole simple pour la détection à base de bioluminescence avec la luciférine. Ce test est basé sur la dépendance de la luciférase à l'ATP pour la production de lumière. En présence de Mg^{2+} , la luciférase catalyse la réaction de la luciférine, de l'ATP et de O_2 pour former de l'oxyluciférine, de l'AMP, du CO_2 , du pyrophosphate et de la lumière ~ 560 nm. La plupart des luminomètres peuvent détecter 1 picomole d'ATP. En présence de phosphate inorganique, le MESH est converti en 2-amino-6-mercapto-7-méthylpurine par la purine nucléoside phosphorylase (PNP) avec un décalage vers le rouge de la longueur d'onde d'absorption. L'élimination enzymatique du fragment ribose du MESH entraîne un changement dans la longueur d'onde d'absorbance maximale de 330 nm à 360 nm. Comme la conversion du MESH nécessite du phosphate inorganique, l'augmentation de l'absorbance à 360 nm peut être utilisée pour mesurer la concentration de phosphate.



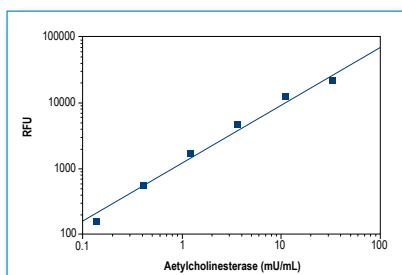
Réponses aux doses de phosphate mesurées avec le PhosphoWorks™ Colorimetric MESH Phosphate Assay Kit.

PhosphoWorks™ Colorimetric Phosphate Assay Kit a été développé pour mesurer l'activité de toute enzyme génératrice de P_i par la complexation de Malachite Green (MG) avec du phosphate dans des conditions acides. La mesure du P_i est basée sur la variation de l'absorbance MG en présence de molybdate. Ce kit de dosage est formulé pour donner une détection sensible de P_i .

Produit	Ex/ Em (nm)	Réf.	Qté
MESH, Phosphate Assay Reagent	330 / -	21600	5 mg
PhosphoWorks™ Colorimetric MESH Phosphate Assay Kit, UV	360 / -	21659	200 tests
PhosphoWorks™ Colorimetric Phosphate Assay Kit, Blue	650 / -	21665	1000 tests
PhosphoWorks™ Fluorimetric Phosphate Assay Kit, Red	571 / 585	21660	125 tests
PhosphoWorks™ Luminometric ATP Assay Kit, Bright Glow	- / 560	21610	1 plaque
PhosphoWorks™ Luminometric ATP Assay Kit, DTT-Free	- / 560	21612	1 plaque
		21613	10 plaques

Acétylcholinestérase

Amplite™ Fluorimetric Acetylcholinesterase Assay Kits fournissent l'une des méthodes les plus sensibles pour détecter l'activité de l'acétylcholinestérase ou le criblage d'inhibiteurs de l'AChE. L'Amplite Red™ est utilisé pour quantifier la choline produite à partir de l'hydrolyse de l'acétylcholine par l'acétylcholinestérase par réactions de couplage médiées par l'enzyme choline oxydase. L'intensité de fluorescence de l'Amplite Red™ est utilisée pour mesurer la quantité de choline formée, qui est proportionnelle à l'activité de l'AChE. La sensibilité est de 0,01 mU d'AChE dans un volume d'essai de 100 μ l (0,1 mU/mL).



Réponses aux doses d'Acétylcholinestérase avec l'Amplite™ Fluorimetric Acetylcholinesterase Assay Kit (# 11402).

Produit	Ex/ Em (nm)	Réf.	Qté
Amplite™ Choline Quantitation Kit	571 / 585	40007	200 tests
Amplite™ Colorimetric Acetylcholinesterase Assay Kit	410 / -	11400	200 tests
Amplite™ Fluorimetric Acetylcholine Assay Kit, Red	571 / 585	11403	200 tests
Amplite™ Fluorimetric Acetylcholinesterase Assay Kit, Green	510 / 524	11401	200 tests
Amplite™ Fluorimetric Acetylcholinesterase Assay Kit, Red	571 / 585	11402	200 tests



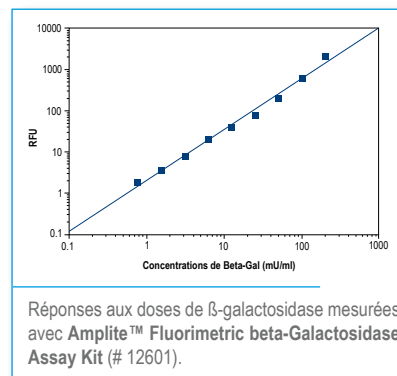
Glycosidases

Le substrat fluorogène β -galactosidase 4-méthylumbelliferyl β -D-galactopyranoside (MUG) est couramment utilisé pour détecter l'activité β -galactosidase dans des extraits de cellules, des lysosomes et du sérum de sang humain. Cependant, le produit d'hydrolyse, la β -méthylumbelliférone, a un pK_a relativement élevé (~ 7,8), ce qui exclut son utilisation pour la mesure continue de l'activité enzymatique. Similaire à MUG, le 3-carboxyumbelliferyl beta-D-galactopyranoside (CUG) est également utilisé pour détecter des galactosidases. Le CUG porte un groupe carboxy, susceptibles d'être conjugué à une molécule porteuse pour une détection sélective des galactosidases.

La Fluorescéine di- β -D-galactopyranoside (FDG) est le substrat fluorogène le plus sensible pour détecter la β -galactosidase. Le FDG non fluorescent est hydrolysé par la β -galactosidase, d'abord en monogalactoside fluorescéine, puis en fluorescéine. L'hydrolyse enzymatique du FDG peut être suivie par l'augmentation de l'absorbance ou la fluorescence.

Contrairement au FDG, la résorufine β -D-galactopyranoside nécessite une réaction d'hydrolyse en une seule étape pour être complètement fluorescente. Le pK_a relativement faible (~ 6,0) de son produit d'hydrolyse, la résorufine, permet son utilisation pour la mesure en continue de l'activité enzymatique au pH physiologique. Le Resorufin galactoside est également utilisé pour quantifier l'activité β -galactosidase dans des cellules de levure individuelles par cytométrie en flux, et pour détecter l'activité β -galactosidase immobilisée dans des bioréacteurs.

Le D-luciférine galactoside est clivé par l'activité bêta-galactosidase, libérant la D-luciférine pour la réaction avec la luciférase. Il peut être utilisé *in vivo* ou *in vitro*.



Produit	Ex/ Em (nm)	Réf.	Qté
Amplitude™ Fluorimetric Beta-Galactosidase Assay Kit, Green	490 / 514	12601	500 tests
CUG [3-Carboxyumbelliferyl beta-D-galactopyranoside]	386 / 448	FP-M1171A	10 mg
D-Luciferin Galactoside	328 / 533	FP-ZE7880	5 mg
FCB [Fluorescein di-beta-D-cellobioside]	490 / 514	FP-GDA680	1 mg
FDG [Fluorescein di-beta-D-galactopyranoside]	490 / 514	FP-52476A	5 mg
FDGlcU [Fluorescein di-beta-D-glucuronide]	490 / 514	FP-663031	1 mg
4-Methylumbelliferyl-beta-D-glucoside, UltraPure Grade	360 / 449	FP-JQ7180	25 mg
MUG [4-Methylumbelliferyl-beta-D-galactopyranoside], UltraPure	360 / 449	FP-JQ7160	25 mg
MUGlcU [4-Methylumbelliferyl-beta-D-glucuronide]	360 / 449	FP-377449	25 mg
Resorufin Alpha-D-galactopyranoside	571 / 585	FP-ZE7940	5 mg
Resorufin Beta-D-galactopyranoside	571 / 585	FP-524738	5 mg

Neuraminidase Assay

L'Amplitude™ Fluorimetric Neuraminidase Assay Kit fournit un dosage fluorimétrique sensible et robuste pour détecter la neuraminidase. La sensibilité est de 0,3 mU / ml de neuraminidase dans un volume de 100 μ L.

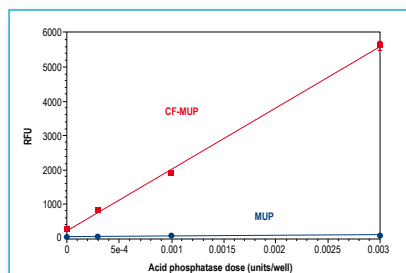
Produit	Ex/ Em (nm)	Réf.	Qté
Amplitude™ Fluorimetric Neuraminidase Assay Kit, Blue	360 / 449	12602	200 tests



Phosphatases

Le Diphosphate de fluorescéine (FDP) est le substrat fluorescent de la phosphatase le plus sensible. Le FDP incolore est hydrolysé en fluorescéine qui présente des propriétés spectrales supérieures ($CE \sim 90000 \text{ cm}^{-1} \text{ m}^{-1}$, rendement quantique $\sim 0,92$). Le FDP est un excellent substrat pour la phosphatase alcaline en ELISA, offrant des limites de détection 50 fois inférieure à celle obtenue avec le chromogène phosphate de 4-nitrophényle.

Le Sun Red™ phosphate est un substrat de la phosphatase fluorescent, qui donne un produit d'hydrolyse rouge. Sa bonne solubilité dans l'eau, son faible K_m et son taux de rotation élevé le rend particulièrement utile pour le double dosage en microplaques par fluorescence et en absorption.



Détection de l'activité de la phosphatase acide avec le CF-MUP et le MUP. Les concentrations des deux substrats (initialement environ 10 mM) sont normalisés sur l'absorbance de chaque solution à 319 nm (pH 10) à une valeur de 0,52 (en supposant que le coefficient d'extinction de chaque substrat est à peu près équivalent). Les signaux de fluorescence résultants ont été enregistrés en utilisant une excitation à 360 nm et émission à 450 nm.

Le Phosphate de 4-méthylumbelliféryle (MUP) est un substrat fluorogène largement utilisé pour la détection de la phosphatase alcaline. Le MUP a été utilisé pour de nombreux protocoles ELISA. Il est également été utilisé pour compter les cellules en fonction de leur activité de la phosphatase alcaline, pour détecter les produits d'amplification PCR, et pour identifier et caractériser des bactéries. Sinon le CF-MUP présente des propriétés spectrales qui sont extraordinaires pour le dosage à la fois de l'activité de phosphatase acide et alcaline. Le CF-MUP pourrait également être utile pour mesurer l'activité des protéines phosphatases qui sont importantes pour des applications de criblage à haut débit dans des conditions physiologiques. Le produit d'hydrolyse du CF-MUP présente à la fois un pK_a inférieur (4,8 contre 7,8 pour les MU) et un rendement quantique de fluorescence plus élevée (0,88 contre 0,63).

Le faible pK_a de son produit d'hydrolyse rend le CF-MUP utile pour le dosage continu des phosphatases acides, ce qui est impossible avec le MUP parce que sa fluorescence doit être mesurée en condition alcaline.

Le PhosLite™ donne un précipité vert fluorescent au niveau de l'activité de la phosphatase. Il est la version fluorescente du système de détection au BCIP. Il peut être facilement utilisé pour détecter les phosphatases acides.

Produit	Ex/ Em (nm)	Réf.	Qté
Amplite™ Colorimetric Alkaline Phosphatase Assay Kit , Yellow	405 / -	11950	500 tests
Amplite™ Fluorimetric Alkaline Phosphatase Assay Kit, Blue	360 / 449	11952	500 tests
Amplite™ Fluorimetric Alkaline Phosphatase Assay Kit, Green	490 / 514	11953	500 tests
Amplite™ Fluorimetric Alkaline Phosphatase Assay Kit , Near IR	646 / 660	11954	500 tests
Amplite™ Luminometric Alkaline Phosphatase Assay Kit	- / 560	11956	100 tests
PhosLite™ Green	345 / 520	11630	1 mg
SunRed™ Phosphate	646 / 659	11629	5 mg
CF-MUP, Sodium Salt	360 / 450	FP-JQ6710	10 mg
D-Luciferin Phosphate	358 / 533	FP-DT244A	1 mg
FDP [Fluorescein diphosphate, tetraammonium salt]	490 / 514	FP-72573A	5 mg
MUP, Disodium Salt, UltraPure Grade	360 / 449	FP-300452	25 mg
pNPP, UltraPure Grade	399 / -	FP-809142	25 mg



Phosphodiesterases

FAM-AMPC et TAMRA-AMPC sont des substrats fluorescents spécifiques pour les phosphodiesterases (PDE) IV avec une fluorescence verte et rouge, respectivement. Ils peuvent être utilisés pour tester les activités de PDE IV ou cribler les inhibiteurs de PDE IV en combinaison avec des anticorps anti-AMPC.

Produit	Ex/ Em (nm)	Réf.	Qté
Screen Quest™ Colorimetric ELISA cAMP Assay Kit	650 / -	36370	1 plaque
Screen Quest™ Fluorimetric ELISA cAMP Assay Kit	571 / 585	36373	1 plaque
AMP-Fluorescein Conjugate Calibrator	492 / 515	FP-CJF810	100 nmol
FAM-cAMP PDE IV Substrate, Green	492 / 515	FP-RK5350	0.5 µmol
FAM-cGMP PDE V Substrate, Green	492 / 515	FP-RK5360	0.5 µmol
GMP-Fluorescein Conjugate Calibrator	492 / 515	FP-CJF820	100 nmol
Resorufin Phosphocholine	575 / 590	FP-GDA660	1 mg
TAMRA-cAMP PDE IV Substrate, Red	544 / 575	FP-JQ7110	0.5 µmol
TAMRA-cGMP PDE V Substrate, Red	544 / 575	FP-JQ7120	0.5 µmol

Sphingomyelinases

Produit	Ex/ Em (nm)	Réf.	Qté
Amplite™ Colorimetric Sphingomyelinase Assay Kit, Blue	655 / -	13620	200 tests
Amplite™ Fluorimetric Acidic Sphingomyelinase Assay Kit, Red	571 / 585	13622	200 tests
Amplite™ Fluorimetric Sphingomyelin Assay Kit, Red	571 / 585	13625	100 tests
Amplite™ Fluorimetric Sphingomyelinase Assay Kit, Red	571 / 585	13621	200 tests

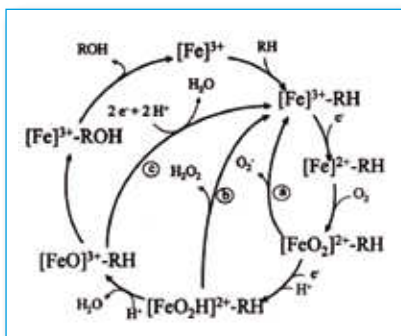


Catalases

Produit	Ex/ Em (nm)	Réf.	Qté
Amplite™ Fluorimetric Catalase Assay Kit, Red	571 / 585	11306	200 tests
Amplite™ Fluorimetric Hydrogen Peroxide Assay Kit, Near IR	647 / 670	11501	500 tests
Amplite™ Fluorimetric Hydrogen Peroxide Assay Kit, Near IR	575 / 590	21660	500 tests

Cytochrome P450

Produit	Ex/ Em (nm)	Réf.	Qté
CEC [3-Cyano-7-ethoxycoumarin] for dealkylase studies	408 / 450	FP-575437	10 mg
7-Ethoxy-4-trifluoromethylcoumarin, P-450 catalyzed O-de-ethylation	385 / 502	FP-M12217	25 mg
Resorufin Benzyl Ether	571 / 585	FP-475691	10 mg
Resorufin Ethyl Ether	571 / 585	FP-40238A	5 mg
Resorufin Methyl Ether	571 / 585	FP-47568A	5 mg
Resorufin Pentyl Ether	571 / 585	FP-49781A	5 mg



Le cycle catalytique du cytochrome P450.

Glycose Oxydase

Produit	Ex/ Em (nm)	Réf.	Qté
Amplite™ Fluorimetric Glucose Oxidase Assay Kit, Red	571 / 585	11300	500 tests
Amplite™ Fluorimetric Glutamate Oxidase Assay Kit, Red	571 / 585	11302	200 tests
Amplite™ Fluorimetric Hydrogen Peroxide Assay Kit, Near IR	647 / 670	11502	500 tests
Amplite™ Fluorimetric Hydrogen Peroxide Assay Kit, Red	575 / 590	11501	500 tests

Horserradish Peroxidase (HRP)

Produit	Ex/ Em (nm)	Réf.	Qté
ADHP (10-Acetyl-3,7-DiHydroxyPhenoxazine)	571 / 585	FP-39423A	5 mg
		FP-39423B	10 mg
		FP-39423D	25 mg
		FP-39423F	50 mg
		FP-39423H	500 mg
		FP-39423I	1 g
Amplite™ Blue	324 / 409	11005	25 mg
Amplite™ Colorimetric Peroxidase Assay Kit, Blue	664 / -	11551	500 tests
Amplite™ Fluorimetric Goat Anti-Mouse IgG-HRP Conjugate ELISA Assay Kit, Red	571 / 585	11540	10 plaques
Amplite™ Fluorimetric Goat Anti-Rabbit IgG-HRP Conjugate ELISA Assay Kit, Red	571 / 585	11541	10 plaques
Amplite™ Fluorimetric Peroxidase Assay Kit, Near IR	647 / 670	11553	500 tests
Amplite™ Fluorimetric Peroxidase Assay Kit, Red	575 / 590	11552	500 tests
Fluoro H2O2™ Hydrogen peroxide/Peroxidase Assay Kit	570 / 590	FLOH100-3	500 tests
Amplite™ Luminometric Peroxidase Assay Kit	- / 425	11559	500 tests
Amplite™ Red HRP Substrate	571 / 585	11011	1 000 tests
Luminol (3-Aminophthalhydrazide) UltraPure grade	355 / 411	FP-04247A	1 g
		FP-04247B	5 g
		FP-04247C	25 g
Luminol (3-Aminophthalhydrazide), sodium salt		FP-CA9612	5 g
		FP-CA9613	10 g
ReadiUse™ ABTS Solution, Optimized for ELISA Assays with HRP	420 / -	11001	1 L
ReadiUse™ hydrogen peroxide solution, 50 mM calibrated and stabilized solution	11004	5 x 10 ml	
Signal Guard™ HRP conjugate stabilizer		11010	50 ml



Lysyl Oxydase

Produit	Ex/ Em (nm)	Réf.	Qté
Amplite™ Fluorimetric Lysyl Oxidase Assay Kit, Red Fluorescence	571 / 585	15255	400 tests

Monoamine Oxydase

Produit	Ex/ Em (nm)	Réf.	Qté
Amplite™ Fluorimetric Hydrogen Peroxide Assay Kit, Near IR	647 / 670	11502	500 tests
Amplite™ Fluorimetric Hydrogen Peroxide Assay Kit, Red	575 / 590	11501	500 tests
Amplite™ Fluorimetric Monoamine Oxidase Assay Kit, Red	571 / 585	11303	200 tests

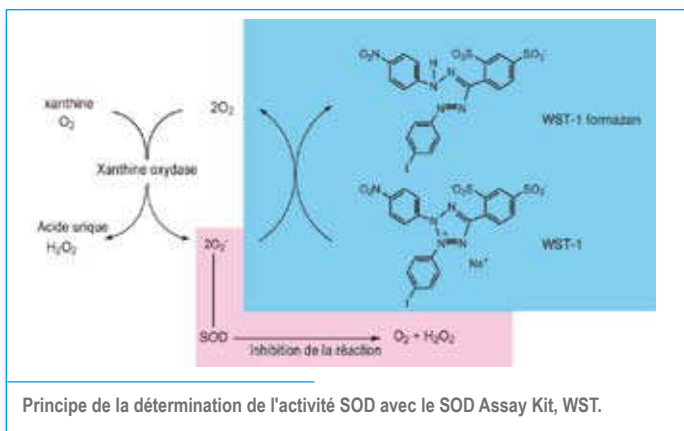
Myéloperoxydase et Superoxyde Dismutase

SOD Assay Kit, WST

- Dosage de l'inhibition de la SOD basé sur le WST-1
- Mesure colorimétrique en microplaques
- Détecte jusqu'à 100% d'inhibition de la SOD
- Détermination de l'IC₅₀ indépendante du pH
- Faible bruit de fond

Le SOD-Assay Kit, WST permet un dosage très pratique et très sensible des SOD en utilisant le sel de tétrazolium hautement soluble dans l'eau, WST-1. Il produit un colorant formazan soluble dans l'eau lors de sa réduction avec un anion superoxyde. Le WST-1 est 70 fois moins réactif avec l'anion superoxyde que le cytochrome C. Aussi une détection très sensible de la SOD est possible. Les échantillons peuvent être dilués avec du tampon pour minimiser les problèmes de bruit de fond. Le WST-1 ne réagit pas avec la forme réduite de la xanthine oxydase; par conséquent, même 100% d'inhibition de la SOD est détectable. Le taux de réduction du WST-1 par l'anion superoxyde est linéairement lié à l'activité de la xanthine oxydase et est inhibée par la SOD. Par conséquent, le IC₅₀ (concentration d'inhibition de 50%) de la SOD peut être déterminé en utilisant des procédés colorimétriques.

Produit	Ex/ Em (nm)	Réf.	Qté
Amplite™ Fluorimetric Hydrogen Peroxide Assay Kit, Near IR	647 / 670	11502	500 tests
Amplite™ Fluorimetric Hydrogen Peroxide Assay Kit, Red	575 / 590	11501	500 tests
Amplite™ Fluorimetric Myeloperoxidase Assay Kit, Red	571 / 585	11301	200 tests
Amplite™ Colorimetric Superoxide Dismutase (SOD) Assay Kit	560 / -	11305	200 tests
Superoxide Dismutase (SOD) Assay Kit, WST based	450 / -	S311-10	500 tests





Xanthine Oxydase

Produit	Ex/ Em (nm)	Réf.	Qté
Amplite™ Fluorimetric Hydrogen Peroxide Assay Kit, Near IR	647 / 670	11502	500 tests
Amplite™ Fluorimetric Hydrogen Peroxide Assay Kit, Red	575 / 590	11501	500 tests
Amplite™ Fluorimetric Xanthine Oxidase Assay Kit, Red	575 / 590	11304	200 tests

Autres Oxydases

Produit	Ex/ Em (nm)	Réf.	Qté
Amplite™ Colorimetric Aldehyde Quantitation Kit	550 / -	10051	200 tests
Amplite™ Colorimetric Aldehyde Quantitation Kit, Blue	620 / -	10053	200 tests
Amplite™ Fluorimetric Aldehyde Quantitation Kit, Blue	360 / 450	10052	200 tests
Amplite™ Fluorimetric Hydrogen Peroxide Assay Kit, Near IR	647 / 670	11502	500 tests
Amplite™ Fluorimetric Hydrogen Peroxide Assay Kit, Red	575 / 590	11501	500 tests
Amplite™ IR	647 / 670	11009	1 mg
Amplite™ Red HRP Substrate	571 / 585	11011	1 000 tests



Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase (G6PD)

Produit	Ex/ Em (nm)	Réf.	Qté
Amplite™ Colorimetric Glucose-6-Phosphate Assay Kit	575 / -	13805	200 tests
Amplite™ Colorimetric G6PD Assay Kit	575 / -	13807	200 tests
Amplite™ Fluorimetric Glucose-6-Phosphate Assay Kit	571 / 585	13804	200 tests
Amplite™ Fluorimetric G6PD Assay Kit	571 / 585	13806	200 tests

Lactate Déshydrogénase (LDH)

Produit	Ex/ Em (nm)	Réf.	Qté
Amplite™ Colorimetric D-Lactate Assay Kit	575 / -	13811	200 tests
Amplite™ Colorimetric D-Lactate Dehydrogenase (LDH) Assay Kit	575 / -	13809	200 tests
Amplite™ Colorimetric L-Lactate Assay Kit	575 / -	13815	200 tests
Amplite™ Colorimetric L-Lactate Dehydrogenase (LDH) Assay Kit	575 / -	13813	200 tests
Amplite™ Fluorimetric D-Lactate Assay Kit	571 / 585	13810	200 tests
Amplite™ Fluorimetric D-Lactate Dehydrogenase (LDH) Assay Kit	571 / 585	13808	200 tests
Amplite™ Fluorimetric L-Lactate Assay Kit	571 / 585	13814	200 tests
Amplite™ Fluorimetric L-Lactate Dehydrogenase (LDH) Assay Kit	571 / 585	13812	200 tests

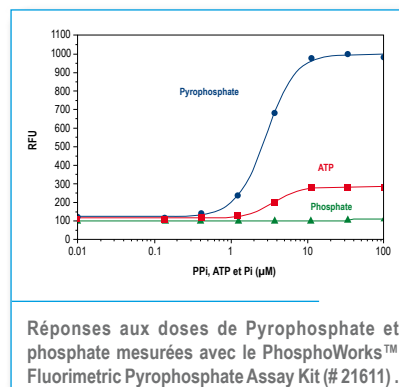
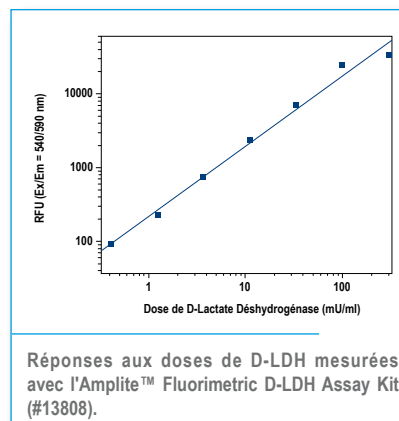
Autres Déshydrogénases

Produit	Ex/ Em (nm)	Réf.	Qté
Amplite™ Colorimetric NAD/NADH Ratio Assay Kit	635 / -	15273	400 tests
Amplite™ Colorimetric NADH Assay Kit	635 / -	15271	400 tests
Amplite™ Colorimetric NADP/NADPH Ratio Assay Kit	635 / -	15274	400 tests
Amplite™ Colorimetric NADPH Assay Kit	635 / -	15272	400 tests
Amplite™ Colorimetric Total NAD and NADH Assay Kit	575 / -	15258	400 tests
Amplite™ Colorimetric Total NAD and NADH Assay Kit, Enhanced	635 / -	15275	400 tests
Amplite™ Colorimetric Total NADP and NADPH Assay Kit	575 / -	15260	400 tests
Amplite™ Colorimetric Total NADP and NADPH Assay Kit, Enhanced	635 / -	15276	400 tests
Amplite™ Fluorimetric Coenzyme A Quantitation Kit, Green	510 / 524	15270	200 tests
Amplite™ Fluorimetric NAD/NADH Ratio Assay Kit, Red	571 / 585	15263	250 tests
Amplite™ Fluorimetric NADH Assay Kit, Red	571 / 585	15261	400 tests
Amplite™ Fluorimetric NADP/NADPH Ratio Assay Kit, Red	571 / 585	15264	250 tests
Amplite™ Fluorimetric NADPH Assay Kit, Red	571 / 585	15262	400 tests
Amplite™ Fluorimetric Total NAD and NADH Assay Kit, Red	571 / 585	15257	400 tests
Amplite™ Fluorimetric Total NADP and NADPH Assay Kit, Red	571 / 585	15259	400 tests
ReadiUse™ NADP Regenerating Kit		15266	400 tests
ReadiUse™ NADPH Regenerating Kit		15265	1000 tests

Polymérase

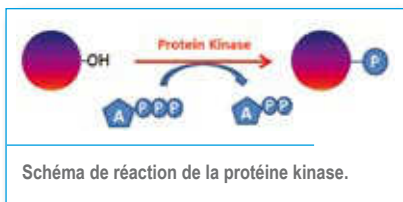
Les polymérase utilisent les nucléotidiques triphosphates comme substrats pour produire du pyrophosphate (PPi). Ainsi la détection de la formation de PPi devient un outil pratique pour le suivi des activités polymérase. Les pyrophosphates (PPi) sont produits par un certain nombre de réactions biochimiques, tels que l'hydrolyse de l'ATP, la polymérisation des ADN et ARN, la formation d'AMP cyclique par l'enzyme adénylate cyclase et de l'activation enzymatique d'acides gras pour former des esters de coenzyme A.

Produit	Ex/ Em (nm)	Réf.	Qté
PhosphoWorks™ Fluorimetric ADP Assay Kit, Red Fluorescence	575 / 590	21655	100 tests
PhosphoWorks™ Fluorimetric Pyrophosphate Assay Kit, Blue	316 / 456	21611	200 tests
PhosphoWorks™ Fluorimetric Pyrophosphate Assay Kit, Enhanced	370 / 467	21614	200 tests
PhosphoWorks™ Luminometric ATP Assay Kit, Bright Glow	- / 560	21610	1 plaque
PhosphoWorks™ Luminometric ATP Assay Kit, DTT-Free	- / 560	21612	1 plaque
		21613	10 plaques
PhosphoWorks™ Luminometric ATP Assay Kit, Steady Glow	- / 560	21609	1 plaque





Protéines Kinases



Produit	Ex/ Em (nm)	Réf.	Qté
Amplite™ Universal Fluorimetric Kinase Assay Kit, Red	571 / 585	31001	250 tests
PhosphoWorks™ Fluorimetric ADP Assay Kit, Red	571 / 585	21655	100 tests
PhosphoWorks™ Fluorimetric Pyrophosphate Assay Kit, Blue	316 / 456	21611	200 tests
PhosphoWorks™ Fluorimetric Pyrophosphate Assay Kit, Enhanced	370 / 467	21614	200 tests
PhosphoWorks™ Luminometric ATP Assay Kit, Bright Glow	- / 560	21610	1 plaque
PhosphoWorks™ Luminometric ATP Assay Kit, Steady Glow	- / 560	21609	1 plaque
PhosphoWorks™ Luminometric ATP Assay Kit, DTT-Free	- / 560	21612	1 plaque
		21613	10 plaques

Transférases

Alanine Aminotransférase

Produit	Ex/ Em (nm)	Réf.	Qté
Amplite™ Colorimetric Alanine Aminotransferase Assay Kit, Blue Color	575 / -	13803	200 tests
Amplite™ Fluorimetric Alanine Aminotransferase Assay Kit		13802	200 tests

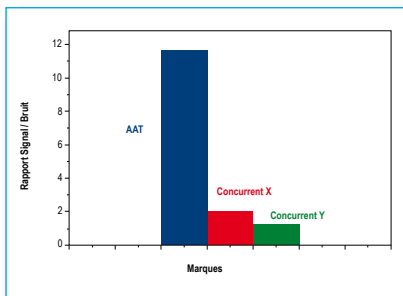
Aspartate Aminotransférase

Produit	Ex/ Em (nm)	Réf.	Qté
Amplite™ Colorimetric Aspartate Aminotransferase (AST) Assay Kit	575 / -	13801	200 tests
Amplite™ Fluorimetric Aspartate Aminotransferase (AST) Assay Kit	571 / 585	13800	200 tests

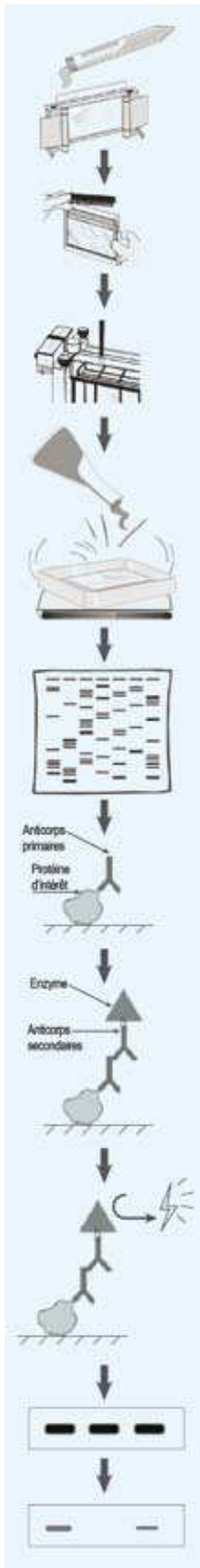
Histones désacétylases (HDAC)

Les Histones désacétylases (HDAC) sont une classe d'enzymes qui éliminent les groupes acétyle à partir d'un acide aminé ε-N-acétyl-lysine sur une histone. La désacétylation restaure la charge électrique positive des acides aminés lysine, ce qui augmente l'affinité de l'histone au squelette phosphate chargé négativement de l'ADN. Ce processus généralement régule à la baisse la transcription de l'ADN en bloquant l'accès des facteurs de transcription. Les inhibiteurs de HDAC sont en cours d'étude en tant que traitement pour des cancers. L'Amplite™ Fluorimetric HDAC Activity Assay Kit fournit une méthode rapide, pratique et sensible pour la détection de l'activité des HDAC. Ce kit utilise le substrat HDAC Green™ qui est beaucoup plus sensible que les substrats de HDAC à base de peptides tels que les Ac-RGK(Ac)-R110, Ac-RGK(Ac) -AMC et Ac-RGK(Ac)-AFC. En outre, le substrat HDAC Green™ est également beaucoup plus résistant à l'hydrolyse de protéases que les autres substrats de HDAC à base de peptides. Le kit peut être utilisé pour mesurer l'activité HDAC dans les lysats cellulaires ou le criblage d'inhibiteurs de HDAC avec des extraits cellulaires ou des enzymes purifiées.

Produit	Ex/ Em (nm)	Réf.	Qté
Amplite™ Fluorimetric HDAC Activity Assay Kit	498 / 520	13601	200 tests



Activité HDAC dans des extraits nucléaires de HeLa mesurée avec le Amplite™ Fluorimetric HDAC Activity Assay Kit et deux peptides commerciaux Ac-RGK(Ac)-R110.



L'électrophorèse et ses étapes :

Voici quelques produits clés, apparaissant par étapes de l'électrophorèse, que vous retrouverez plus en détail dans les pages suivantes :

Coulez le gel

- Acrylamides Uptima™
- Produits associés pour la polymérisation
- Acrylamides formulées
- Gels pré-coulés
- Tampons d'électrophorèse

Chargez les marqueurs et les échantillons et démarrez l'électrophorèse

- Marqueurs de taille
- Tampons de charge

Visualisez les protéines

- Colorants de gel
- Conservez vos gels colorés : Crack free

Immunoblotting : Transférez sur membrane

Vérifiez l'efficacité du transfert et annotez votre blot

- Ponceau, AbPens : Voir notre chapitre :

IMMUNODETECTION / Réactifs par technique / Réactifs pour WB

Colorez et Décolorez le blot

- Colorants de gel par l'epicocconone

Bloquez les sites non spécifiques

- Voir notre chapitre :

IMMUNODETECTION / Réactifs par technique / Réactifs pour WB

Lavez la membrane

- Voir les tampons aux chapitres :

IMMUNODETECTION / Réactifs polyvalents
et BIOCHIMIQUES GENERAUX

Incuber avec l'anticorps primaire puis secondaire

- Voir nos chapitres :

IMMUNODETECTION / Anticorps Primaires et
IMMUNODETECTION / Anticorps Secondaires

Ajoutez les réactifs de détection et visualisez les signaux

Déhybridez et réhybridez le blot si nécessaire

- Voir notre chapitre : Antibody Stripping Buffer

IMMUNODETECTION / Réactifs par technique / Réactifs pour WB



Uptima

Les gels de polyacrylamide :

Les gels de polyacrylamide sont formés par la polymérisation de longues chaînes de monomères d'acrylamide. La polymérisation de la matrice d'acrylamide dépend de la présence d'un agent de réticulation et la génération de radicaux libres.

L'agent de réticulation le plus couramment utilisé est le **N,N'**

méthylène-bisacrylamide (Bis). Le **persulfate d'ammonium (APS)** est souvent utilisé pour initier la polymérisation du fait que l'APS génère des radicaux libres d'oxygène résultant de sa décomposition chimique (S₂O₈²⁻, SO₄²⁻). Le **TEMED (N, N, N', N'-tétraméthyléthylènediamine)**, stabilisant de radicaux libres, augmente la vitesse de polymérisation en gel.

La qualité et la structure de réticulation du polyacrylamide utilisé pour l'électrophorèse des protéines ont un effet direct sur la qualité des séparations à haute résolution. Ainsi, la préparation de gels avec une grande pureté d'acrylamide et de bis-acrylamide est essentielle. Le **SDS** (dodécylsulfate de sodium) est un détergent inclus dans le gel et le tampon d'électrophorèse ; il se lie aux protéines et les dénature, ce qui leur permet d'être séparées en fonction du poids moléculaire uniquement. L'électrophorèse permet ainsi de déterminer la masse moléculaire des protéines isolées, et, après réduction des ponts di-sulfures par le DTT ou TCEP, de leurs chaînes.



Acrylamides

Les acrylamides sont les matrices les plus utilisées pour l'électrophorèse des protéines ou PAGE (polyacrylamide Gel Electrophoresis), dont la méthode SDS-PAGE, pour déterminer la taille moléculaire des protéines, l'électrophorèse native, la méthode IEF (IsoElectric Focusing ou électrofocalisation) pour la détermination des isoformes des protéines, et leurs combinaisons, notamment l'électrophorèse bidimensionnelle (IEF / SDS-PAGE).

La gamme UPTIMA™ fournit des réactifs de la plus haute qualité pour une matrice de grande résolution dans les séparations 1-D, 2-D et IEF.

Solutions standard prêtes à l'emploi Uptima™, Biotechnology grade

Produit	Réf.	Qté
Solutions à 40% concentrée		
Acrylamide/Bis-Acrylamide 29:1 Solution 40%	UP864927	500 ml
Contient 38,67% d'acrylamide/1,33 de bis-Acryl (w/v)	864929	1 L
	86492F	5 x 100 ml
Acrylamide/Bis-Acrylamide 37,5:1 Solution 40%	UP864937	500 ml
contient 38,96% d'acrylamide/1,04% de bis-Acryl (w/v)	864936	1 L
	864938	5 x 100 ml
Solutions à 30% concentrée		
Acrylamide/Bis-Acrylamide 29:1 Solution 30%	420124	500 ml
Contient 38,67% d'acrylamide/1,33 de bis-Acryl (w/v)	420125	1 L
	420126	5 x 100 ml
Acrylamide/Bis-Acrylamide 37,5:1 Solution 30%	GV3240	500 ml
contient 38,96% d'acrylamide/1,04% de bis-Acryl (w/v)	GV3241	1 L
	GV3242	5 x 100 ml

Solution stock concentrée Uptima™, Biotechnology grade

Pour préparer des solutions à façon.

Produit	Réf.	Qté
Acrylamide Solution 4X-40%	873376	500 ml
Bis-Acrylamide Solution 2%	UP864965	500 ml

Poudres

Les acrylamides et bis-acrylamides en poudre ont une pureté >99,9%, une solubilité élevée (permettant de préparer des solutions stock plus concentrées) et une faible conductivité Electro-Endosmotique (EEO).

Produit	Réf.	Qté
Acrylamide Utrapure powder biologie moléculaire	59844A	500 g
	59844B	1 kg
	59844C	5 kg
Bis-Acrylamide, Biotech grade	05379L	100 g
	05379M	250 g
	05379N	500 g
Acrylamide/Bis-Acrylamide 29:1 premixed powder	876000	40 g
	876001	200 g
Acrylamide/Bis-Acrylamide 37,5:1 premixed powder	876010	40g
	876011	200g

Technical Tip

Bénéfices des solutions formulées par rapport à celles fabriquées en laboratoire :

- **Gain de temps** : prêt à l'emploi
- **Sans danger** : pas de manipulation de poudre cancérigène.
- **Reproductibilité** : lots très contrôlés

Spécifications

Acrylamide / bis-acrylamide 29:1

Solution à 40% contenant 38,67% (p / v) d'acrylamide et 1,33% (p / v) de bis-acrylamide. Excellent pour l'électrophorèse des protéines en général et peut également être utilisé pour l'électrophorèse des acides nucléiques. Le taux de réticulation du monomère final est de 29:1.

Acrylamide / bis-acrylamide à 37,5: 1 (30: 0,8)

Solution à 38,96% (p / v) d'acrylamide et 1,04% (p / v) de bis-acrylamide. Optimisé pour la plupart des séparations des protéines Le taux de réticulation du monomère final est de 37,5: 1 (30: 0,8).



Produits associés pour la polymérisation

Persulfate d'ammonium

$(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$; PM : 228,20
ACS Grade
Pureté : 98,0 %

Produit	Réf.	Qté
Persulfate d'ammonium	UP306098	25 g
Persulfate d'ammonium, Proteomics grade	R22880	25 g
	R22881	100 g

TEMED

(N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine), $\text{C}_6\text{H}_{16}\text{N}_2$, PM : 116,20
Ultra pure grade
Pureté (base anhydre) : 99,0 %

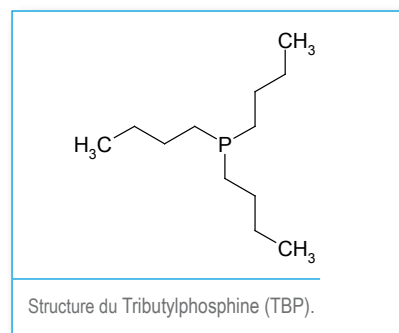
Produit	Réf.	Qté
TEMED	UP15413D	25 ml
TEMED, Proteomics grade	154137	25 ml
	154138	50 ml
	154139	100 ml

Tributylphosphine (TBP)

CAS : 998-40-3 PM : 202.32

Agent réducteur utilisé pour la préparation d'échantillons protéiques en électrophorèse (IEF, 2D). La réduction suivie d'une alkylation par l'iodoacétamide améliore la résolution de séparation, permet de charger plus d'échantillon, et de visualiser des protéines très peu abondantes. Aussi utilisé comme catalyseur en synthèse organique.

Produit	Réf.	Qté
Tributylphosphine (TBP)	T09230	250 g





Protocole NEXT GEL™

1. Choisissez NEXT GEL™ Solution

2. Add APS and TEMED

3. Pour the Gel and Insert Comb

4. Add 1X NEXT GEL™ Running Buffer to the Chamber and Load Samples

5. Run Gel

6. Stain or Transfer



Analyse en SDS-PAGE haute résolution d'un homogénat de foie et en parallèle des marqueurs de protéines sur un gel NEXT GEL®. Coloration au Bleu de Coomassie®.

Concentration NEXT GEL®	Gamme de séparation
5%	30-500 kDa
7,50%	20-300 kDa
10%	10-200 kDa
12,50%	3,5-100 kDa
15%	2,5-100 kDa

New Electrophoresis X'PRESS Technology (NEXT GEL®)

Les NEXT GEL® (Proteomics Grade) sont des solutions uniques constituées d'acrylamide, bis-acrylamide et SDS, prêtes à l'emploi. Leur formulation unique ralentit la migration des protéines, éliminant la nécessité du gel de concentration (stacking gel).

AVANTAGES :

- **Haute Résolution :**
Distingue un PM de 14,4 kDa de 14,2 kDa (avec Gel NEXT GEL® 10%).
- Sépare des échantillons protéiques allant de 3,5kDa à 212kDa sur un seul gel
- **Gagner du temps ! Prêt à l'emploi, en moins d'UNE minute !**
Ne nécessite pas de stacking gel (gel de concentration)
TOUT-EN-UN : il suffit d'ajouter l'APS / TEMED puis coulez le gel!
Tampon 20X de migration inclus
- **Sans danger, stable et économique :**
Pas de port supplémentaire lié à la dangerosité du produit
Stable à température ambiante pendant plus de 1 an
Moins coûteux que les gels de gradient tout prêt

Ses propriétés proches des gels de gradient permettent :

- La séparation des petits peptides aux protéines de hauts poids moléculaires dans un même gel.
- Meilleure résolution grâce à une plus grande distance de migration

Les gels sont compatibles avec les applications SDS-PAGE standards, les équipements 1D et 2D et les applications en aval telles que les transferts en Western Blot, le séquençage des protéines, les analyses MALDI et les méthodes de coloration classiques.

Le NEXT GEL® est une alternative aux gels de gradient, plus facile à utiliser et économique. Les solutions prêtes à l'emploi pré-mélangées sont stables pendant 6 mois et peuvent être conservées sur votre paillasse à température ambiante.

Il suffit d'ajouter TEMED et APS, mélanger, verser, insérer le peigne et charger le gel.

NEXT GEL® Solutions prêtes à l'emploi

Deux conditionnements sont proposés : 100 ml et 500 ml de réactifs pour respectivement 10 mini gels ou 4 gels standards, et 50 mini gels ou 20 gels standards.

Le tampon de migration NEXT GEL™ Running Buffer est inclus.

Produit	Réf.	Qté
NEXT GEL® 5%	GS4270	100 ml
	GS4271	500 ml
NEXT GEL® 7.5%	GS4280	100 ml
	GS4281	500 ml
NEXT GEL® 10%	BG6290	100 ml
	BG6291	500 ml
NEXT GEL® 12.5%	GS4290	100 ml
	GS4291	500 ml
NEXT GEL® 15%	GS4300	100 ml
	GS4301	500 ml



HTS NEXT GEL® solutions prêtes à l'emploi

Le kit HTS NEXT GEL® Kit contient de l'agarose unique et son tampon de migration NEXT GEL®. Par une séparation rapide et efficace, il permet l'analyse en série d'échantillons protéiques dénaturés (jusqu'à 200).

Les protéines de PM compris entre 14 kDa et 200 kDa sont facilement résolues sur un gel d'agarose 4% dont la longueur de la bande n'excède pas 6 cm.

Un kit permet de préparer 5 gels de 25 cm x 25 cm x 0,5 cm (jusqu'à 1000 échantillons)

Applications

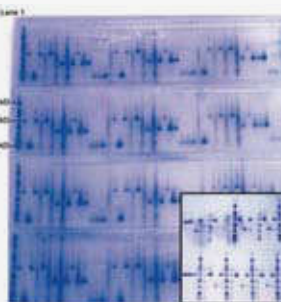
- Criblage de banques d'expression protéiques
- Criblage de médicaments
- Etudes de stabilité dans les contrôles qualité
- Extraits de cellules, lysats de tissus
- Surnageants de culture (activé vs non activé)
- Fractions protéiques issues de chromatographie par HPLC ou FPLC

Produit	Réf.	Qté
HTS NEXT GEL® KIT	IU6350	1 Kit
Contient l'agarose HTS NEXT GEL™ (60 g), le tampon de migration NEXT GEL™ Running Buffer (2 Pks), le tampon de charge NEXT GEL™ Sample Loading Buffer 4X (5 ml).		

Produits Liés

Tampons NEXT GEL®

• Le tampon de migration NEXT GEL® Running Buffer est optimisé pour la préparation et la migration des protéines avec les gels NEXT GEL®. Ce tampon prêt-à-diluer permet une haute résolution sur une large gamme de tailles de fragments protéiques. Il est inclus dans les kits mais aussi disponible séparément.



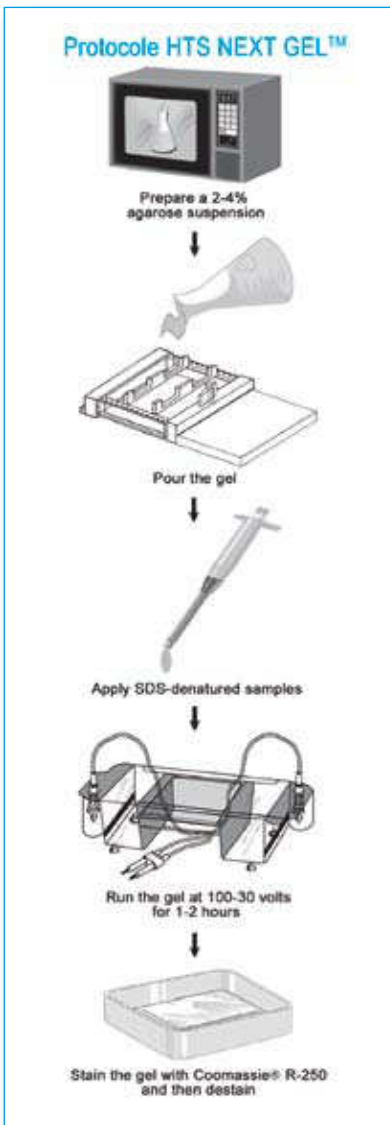
NEXT GEL® Running Buffer, 20X concentrate	GS4310	100 ml
	GS4311	500 ml

• Le tampon de transfert NEXT GEL® est optimisé pour le transfert des gels NEXT GEL®

NEXT GEL® Transfer Buffer 10X concentrate	IS3440	500 ml
---	--------	--------

Les points forts :

- >200 échantillons par gel
- Contient tous les réactifs pour l'analyse
- Economique et utilisation facile
- Séparation de protéines de grandes tailles



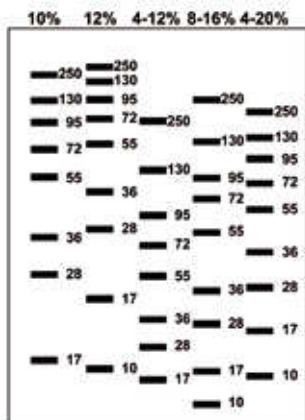


Spécifications GeBaRunner :

Dimensions GeBaGel : 116,8 x 84 x 15,6 mm
 Dimensions GeBaRunner : 167 x 148 x 43,5 mm
 Voltage maximum : 200V DC
 Température de migration: 4°C-40°C
 Puissance maximum : 20 W
 Courant maximum : 100 mA

Spécifications du GeBaGel :

Matrice du gel : Acrylamide/Bis-Acrylamide
 Epaisseur du gel : 1,4 mm
 Taille du gel : 8 cm x 7.5 cm
 Stacking Gel 4%
 Tampon : Tris-HCl
 Tampon de migration : Tris-Glycine-SDS



GeBaGel, Gels d'électrophorèse pré-coulés et sa cuve, le GeBaRunner.

Le **GeBaRunner** est un système d'électrophorèse horizontal semi-sec, utilisant des mini-gels GeBaGel de polyacrylamide pré-coulés. Les gels GeBaGel sont compatibles avec le tampon de migration Tris-Glycine et ne contiennent pas de SDS, permettant l'analyse des protéines sous deux conditions, natives et dénaturantes.

La cuve GeBa est très peu onéreuse, permettant à chacun d'avoir son propre système d'électrophorèse (voire plusieurs!) pour plus de flexibilité et fiabilité à lancer son ou ses analyses. Chacun cuve fait migrer un gel. Les avantages du système (cuves + gels) sont :

- **Pratique :**
 - Choix des concentrations de gels
 - Choix des volumes d'échantillons.
- **Facile d'utilisation :**
 - Assemblage très facile.
 - Dépôt de l'échantillon avec une pipette standard, pas besoin de seringue.
 - Aucun adaptateur requis.
 - Aucune fuite de tampon du réservoir intérieur au réservoir extérieur.
 - Ouverture aisée de la cassette pour retirer le gel.
- **Economie** de tampon de migration : 150 ml suffisent par migration.
- **Haute résolution** : des bandes nettes fournissent des résultats clairs et précis.
- **Durée de vie** : supérieure à 12 mois.



	1+(1) puits 700 µl/puits	1+(1)+1 puits 200 µl/puits	10 puits 35 µl/puits	15 puits 2µl/puits
GeBaGel 7% (10 unités)			UVA830	
GeBaGel 10% (10 unités)	DZ3841	DZ3901	BI9695	RC7582
GeBaGel 12% (10 unités)	DZ3851	DZ3911	BI9705	RC7592
GeBaGel 15% (10 unités)			UVA840	UVA850
GeBaGel 4-12% (10 unités)	DZ3871	DZ3941	BI9715	RC7602
GeBaGel 4-20% (10 unités)	DZ3881	DZ3961	RC7731	RC7612
GeBaGel 8-16% (10 unités)	DZ3891	DZ3971	BI9725	RC7622

Chaque boîte de gels contient 10 gels

Produit

GeBaRunner Système électrophorèse

Réf.

BI9740

Produits Liés

Laemmli Sample Buffer, Concentrated 3X	CL6200	1 ml
	CL6201	15 ml
	CL6202	30 ml
Laemmli Sample Buffer, Concentrated 5X	UVA860	30 ml

Horizontal pre cast GeBaGel

10% SDS-PAGE





ExpressPlus™ PAGE precast Gels

Les gels ExpressPlus™ Gels sont une version améliorée des gels Express PAGE Gels. Ils permettent :

- Un temps de migration réduit
- De plus grands volumes de chargement
- Une plus grande efficacité de transfert
- Un meilleur tarif

Les gels ExpressPlus™ PAGE sont coulés dans un environnement de pH acide faible qui réduit au minimum l'hydrolyse du polyacrylamide et permet une meilleure stabilité de gel et une résolution de qualité supérieure.

- **Faciles à utiliser** : simples à mettre en place, ne nécessitent pas de matériel particulier.
- **Grand Volume de chargement** : Jusqu'à 80 µl
- **Haute Résolution** : Technique de coulage de gel propriétaire pour une séparation haute résolution des bandes de protéines.
- **Haute reproductibilité** : régularité dans la performance d'un gel à un autre.
- **Longue Durée de vie** : Jusqu'à 12 mois pour un stockage à 2-8 ° C
- **Bis-Tris Gels** : Le faible pH acide minimise les modifications des protéines et retarde considérablement l'hydrolyse de l'acrylamide.

Produit	Réf.	Qté
ExpressPlus™ PAGE Gels 4-12% 15 Puits	VGT930	20 unités
ExpressPlus™ PAGE Gels, 10%, 10 Puits	VGT850	20 unités
ExpressPlus™ PAGE Gels, 10%, 12 Puits	VGT860	20 unités
ExpressPlus™ PAGE Gels, 10%, 15 Puits	VGT870	20 unités
ExpressPlus™ PAGE Gels, 12%, 10 Puits	VGT880	20 unités
ExpressPlus™ PAGE Gels, 12%, 12 Puits	VGT890	20 unités
ExpressPlus™ PAGE Gels, 12%, 15 Puits	VGT900	20 unités
ExpressPlus™ PAGE Gels, 4-12%, 10 Puits	VGT910	20 unités
ExpressPlus™ PAGE Gels, 4-12%, 12 Puits	VGT920	20 unités
ExpressPlus™ PAGE Gels, 4-20%, 10 Puits	VGT940	20 unités
ExpressPlus™ PAGE Gels, 4-20%, 12 Puits	1F0770	20 unités
ExpressPlus™ PAGE Gels, 4-20%, 15 Puits	VGT950	20 unités
ExpressPlus™ PAGE Gels, 8%, 10 Puits	VGT820	20 unités
ExpressPlus™ PAGE Gels, 8%, 12 Puits	VGT830	20 unités
ExpressPlus™ PAGE Gels, 8%, 15 Puits	VGT840	20 unités
ExpressPlus™ PAGE Gels, 8-16%, 10 Puits	VGT960	20 unités
ExpressPlus™ PAGE Gels, 8-16%, 12 Puits	VGT970	20 unités
ExpressPlus™ PAGE Gels, 8-16%, 15 Puits	VGT980	20 unités

Produits Liés

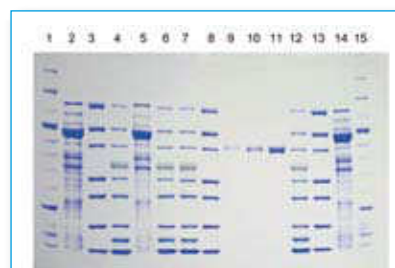
5X Sample Buffer	RA0940	5 ml
MOPS Running Buffer Powder	RA0090	5/PK
Transfer Buffer Powder	RA0100	10/PK

Taille de la cassette :
100 x 85,4 x 4,7 mm (L x P x T)
Taille du gel : 80 x 70 x 1 mm (L x P x T).



Cuves compatibles :

- GradiGel Mini 4-Cell
- BI Universal Protein System
- EC 4-Cell
- Hoefer Tall Mighty Small™ (SE 280)
- Hoefer Mighty Small™ (SE 260/SE 250)
- Daiichi Mini 2-Gel & 6-Gel
- Owl Road Runner, Penguin
- Bio-Rad Mini-PROTEAN® II , 3 & Tetra Cell
- Owl Single Sided Vertical System
- Invitrogen Novex XCell I, II, & Surelock® (Use with GenScript Gel Tank Adapter Plates)



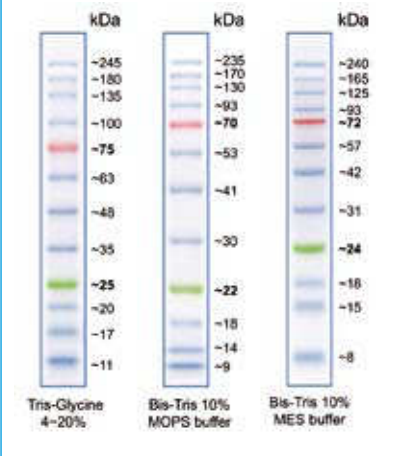
ExpressPlus™ PAGE Gels, 4-20%, 15 Puits coloré au bleu de coomassie.

- Lignes 1, 15 : NEB Protein Standard, 5 µl
Lignes 2, 5, 14 : Lysat E.Coli, 5 µl
Lignes 3, 8, 13 : PAGE-MASTER Protein Standard Plus (#VGI440), 5 µl
Lignes 9, 10, 11 : BSA 20 ng/400 ng/800n g

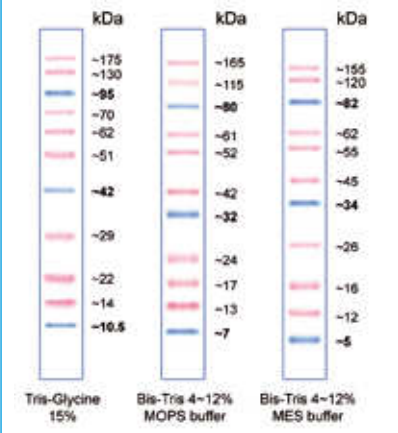


GeneDireX®

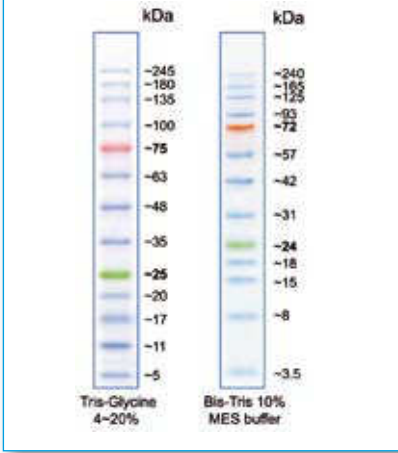
BLUeye Prestained Protein Ladder



PINK Plus Prestained Protein Ladder



BLUelf Prestained Protein Ladder

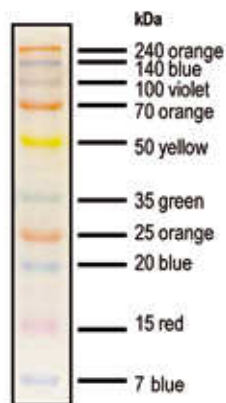


Marqueurs de taille moléculaire

Les marqueurs protéiques de poids moléculaire sont un outil indispensable pour déterminer la taille moléculaire apparente des échantillons de protéines analysées par SDS-PAGE. Ils sont souvent pré-colorés pour leur visualisation durant l'électrophorèse et pour la lecture quelle que soit la coloration de gel (par exemple, coloration des glycosides (PAS) ou des groupes phospho).

Produit	Réf.	Qté
BLUeye Prestained Protein Ladder 11-245kDa, 12 bandes, 3 couleurs Marqueur prêt à l'emploi dans son tampon de charge avec deux bandes de référence 25 et 75 kDa (verte & rouge)	FO9810	500 µl (>100 tests)
PINK Plus Prestained Protein Ladder 10-175kDa, 11 bandes, 2 couleurs Trois bandes de référence : 10, 40 et 90 kDa (bleu)	XZ2300	2 x 250 µl
BLUelf Prestained Protein Ladder 3,5-245kDa, 13 bandes, 3 couleurs Deux bandes de référence : 25 et 75 kDa (verte & rouge)	JO4360	500 µl
Uptima™ Broad-Range Multi-Cooled Protein MW Markers 7-240kDa, 10 bandes multicolores	L77152	250 µl
Blue protein Markers, High MW range (2.86-43 kD) 2,86-43kDa, 6 bandes	82673A	500 µl (50 tests)

Uptima™ Broad-Range Multi-Cooled Protein MW Markers. Blot SDS-PAGE 8-20%





Marqueurs de taille moléculaire de Genscript

La sélection suivante de marqueurs de poids moléculaire des protéines pour l'électrophorèse SDS-PAGE comprend :

- Des standards pré-colorés constitués de bandes de protéines colorées pour une meilleure identification pendant la progression et après l'électrophorèse;
- Les standards de protéines non marquées permettent une estimation du poids moléculaire plus précise, puisque les protéines ne sont pas modifiées par la présence du colorant.

Produit	Réf.	Qté
Smart Advanced Broad-Range Protein Standard 30-200kDa, 7 bandes Marqueur prêt à l'emploi pour déterminer le PM d'échantillons protéiques Une bande de référence à 100kDa	VGG260	250 µl
Smart Dual Color Pre-Stained Protein Standard 14-100kDa, 7 bandes pré-colorées Marqueur prêt à l'emploi pour déterminer le PM d'échantillons protéiques et évaluer l'efficacité du transfert en western.	VGH840	250 µl
Smart Multi Color Pre-Stained Protein Standard 14-120kDa, 7 bandes pré-colorées Marqueur prêt à l'emploi pour déterminer le PM d'échantillons protéiques et évaluer l'efficacité du transfert en western.	VGI380	250 µl
PAGE-MASTER Protein Standard (For SDS-PAGE) 10-120kDa, 7 bandes Protéines hautement purifiées pour d'excellents résultats en SDS-PAGE	VGG820	500 µl
PAGE-MASTER Protein Standard Plus 10-120kDa, 9 bandes dont deux bandes à 15kDa et 50kDa pré-colorés. Protéines hautement purifiées pour d'excellents résultats en SDS-PAGE	VGI440	500 µl
WB-MASTER Protein Standard (Western Blot) 20-120kDa, 7 bandes de protéines recombinantes. Conçu pour l'identification des protéines en western blot. Chaque protéine possède un site de liaison capable de fixer les anticorps primaires ou secondaires d'un large panel d'espèces hôtes. Ce qui permet une visualisation directe de l'ensemble des marqueurs de protéines et des échantillons testés sur le même western blot sans ajout de réactif supplémentaire.	VGG140	250 µl

Caractéristiques

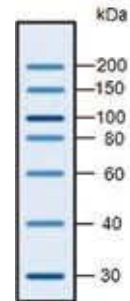
Large choix :
pour SDS-PAGE et pour Western blot.

Large gamme de poids moléculaires :
Gammes adaptées à tous les besoins.

Identification facile :

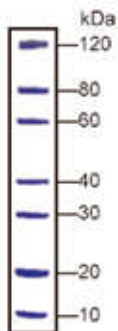
Bandes de protéines bien définies pour l'estimation de PM précise et l'évaluation de l'efficacité du transfert.

Smart Advanced Broad-Range Protein Standard

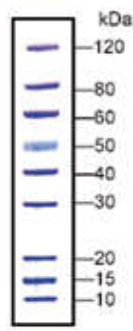


SDS-PAGE 8% suivi d'une coloration au Bleu de Coomassie R-250.

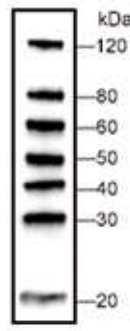
PAGE-MASTER Protein Standard



PAGE-MASTER Protein Standard Plus



WB-MASTER Protein Standard

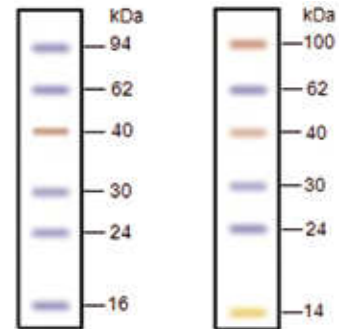


SDS-PAGE 4-20%

Suivi d'une coloration au Bleu de Coomassie R-250

Transféré sur membrane de nitrocellulose

Pre-Stained Protein Standard Smart Dual Color Smart Multi Color



SDS-PAGE 12% suivi d'un transfert sur membrane PVDF.



Tampons d'électrophorèse

La gamme Uptima™ offre une large gamme de tampons pour électrophorèse SDS-PAGE et Western-Blot, incluant les tampons de migration et les tampons de transfert.

Tampons TRIS

Le tampon Tris-Glycine (TG) est l'un des tampons d'électrophorèse le plus couramment utilisé pour la séparation des protéines. Il est fourni avec ou sans SDS.

D'autres tampons comme la Tricine (TT), Tris-Tricine-SDS (TT-SDS) sont proposés pour l'électrophorèse des protéines en conditions natives et dénaturantes.

Tous sont fabriqués à partir de produits chimiques de haute qualité selon des procédures très contrôlées.

Tampons Tris-Glycine (TG)

Les tampons Tris-Glycine sont disponibles en solution concentrée et en poudre, prêts à être dilués. De qualité biologie Moléculaire (Biotechnology Grade), ils sont exempts de DNase, RNase, de protéase.

Le tampon final contient 0,025 M de Tris, 0,192 M de Glycine pH 8,3.

Produit	Réf.	Qté
TG Buffer 10X Solution	UP91493A	5 L (50 L 1X)
	91493B	1 L (10 L 1X)
TG Buffer Powder	914945	2 Pk (2 x 10 L 1X)
	914946	40 L (40 L 1X)

Tampons Tris-Glycine-SDS (TG-SDS)

Les tampons Tris-Glycine-SDS sont disponibles en solution concentrée et en poudre, prêts à être dilués. De qualité biologie Moléculaire (Biotechnology Grade), ils sont exempts de DNase, RNase, de protéase.

Le tampon final contient 0,025 M de Tris, 0,192 M de Glycine et 0,1% de SDS, pH 8,3.

Produit	Réf.	Qté
TG-SDS 10X	UP91495E	5 L (50 L 1X)
	914959	1 L (10 L 1X)
TG-SDS Powder	865984	40 L (40 L 1X)

Tampon pour gel de concentration (Stacking Gel)

Produit	Réf.	Qté
Stacking Buffer (4X) Contient 0,5M de Tris-HCl, 0,4% de SDS, pH 6,8.	IYO450	500 ml
	IYO451	1 L

Tampons Tris-Tricine (TT) et Tris-Tricine-SDS (TT-SDS)

Le tampon final contient 0,1 M de Tris, 0,1 M de Tricine, pH 8,3.

De qualité biologie Moléculaire (Biotechnology Grade), ces tampons sont exempts de DNase, RNase, de protéase.

Produit	Réf.	Qté
TT 10X	989382	500 ml (5 L 1X)
	989383	1 L (10 L 1X)
TT-SDS 10X	764112	1 L (10 L 1X)
	764113	5 L (50 L 1X)

Tampons Tris-Glycine & Tris-glycine-SDS :

L'utilisation du tampon Tris-Glycine (TG) pour l'électrophorèse a été introduite puis popularisée par Laemmli en 1970.

Depuis, les tampons TG et TG-SDS sont utilisés couramment pour l'utilisation dans les gels d'électrophorèse de polyacrylamide des protéines en conditions natives ou dénaturantes.

La polyvalence des tampons TG ou TG-SDS permet la séparation précise des protéines dans une plage de 5 à 500 kDa.

Tampons Tris-Tricine & Tris-tricine SDS tampon :

Le tampon Tris-Tricine (TT) a été développé par Schaeffer et Jagow en 1987.

En présence de TG/ TG-SDS, les polypeptides de petits PM sont emprisonnés dans des micelles de SDS qui migrent derrière le front d'ions et ne sont pas séparées. La tricine permet la dissociation des petits polypeptides des micelles de SDS, permettant une migration selon leur PM.

La séparation des protéines de PM inférieur à 10 kDa peut être réalisée dans des gels de petits pourcentages d'acrylamide pour une meilleure résolution électrophorétique.



Uptima

SDS (Sodium Dodecyl Sulfate)

Le SDS est sélectionné pour sa pureté et sa teneur en C12.

Exempt de nucléase et protéase, de qualité Biologie Moléculaire (Biotechnology Grade), il est utilisé dans les techniques de purification des acides nucléiques, les cocktails d'hybridation, les électrophorèses, les tampons de lavage et dans les études des protéines.

Pureté > 99,0%

Produit	Réf.	Qté
SDS Powder	089388	500 g
	089389	1 kg
SDS Solution 10%	N13828	500 ml
	N13829	1 L
SDS Solution 20%	UP896825	200 ml
	UP896826	500 ml

Le Dodécylsulfate de sodium est un réactif essentiel dans de nombreuses applications de biologie moléculaire.

Il est reconnu que la pureté et la teneur en C₁₂ impactent considérablement les performances de ce détergent.

Pour exemple :

- Le degré de contamination en C₁₆-alkyl sulfate par rapport à la renaturation des protéines
- les contaminants absorbant en UV ont un impact négatif sur la sensibilité de la détection.

En outre, les métaux lourds / contaminants chlorure diminuent la séparation par électrophorèse, et l'activité enzymatique.

Tampons IEF (IsoElectric Focusing)

Les tampons de focalisation électrophorétique (ou électrofocalisation - IEF: IsoElectric Focusing) sont concentrés et prêt à l'emploi, permettant un gain de place en laboratoire.

Produit	Réf.	Qté
IEF Anode Buffer, 50X	IYO272	500 ml
	IYO273	1 L
IEF Cathode Buffer, 10X	IYN092	250 ml
	IYN093	500 ml

Biochimiques pour tampons d'électrophorèse

Produit	Réf.	Qté
BES Buffer	BA785A	100 g
MOPS, Biotechnology Grade	062000	100 g
	062002	500 g
TRICINE Buffer, Proteomics grade	GS3993	100 g
	GS3994	500 g
Tris Base, Biotechnology Grade	UP031657	1 kg
	UP031658	500 g
Tris HCl, Biotechnology Grade	UP09154D	500 g
	UP09154E	1 kg



Tampons de charge



Le tampon de charge est utilisé dans la préparation des échantillons. Il est composé de Tris, SDS, glycérol, d'un colorant ou deux (Bleu de Bromophénol, Cyanol Xylène) et selon les besoins d'un agent réducteur (DTT, 2-mercaptoethanol).

Le SDS dénature la protéine lui donnant une charge négative.

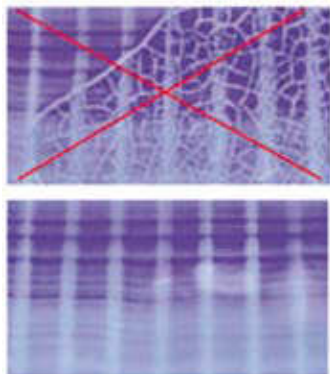
Le Bleu de Bromophénol (BBP) et le cyanol Xylène permettent de suivre le déroulement de l'électrophorèse. Le BBP migre plus vite que les protéines, il est donc utilisé comme indicateur du front de migration. Sa migration est comparable à celle d'un fragment de 300pb, celle du cyanol Xylène à celle d'un fragment de 4000pb.

Le glycérol augmente la densité de l'échantillon et facilite son dépôt dans le puits.

Le 2-mercaptoethanol et le DTT sont des agents réducteurs des ponts disulfures des protéines.

Produit	Réf.	Qté
Laemmli Buffer 1X	HH6330	50 ml
Prêt à l'emploi : 1 volume de Laemmli Buffer+1 volume d'échantillon Contient 4% de SDS, 20% de glycérol, 10% de 2-mercaptoethanol, 0,004% de bleu de bromophénol et 0,125 M de Tris HCl, pH ~ 6.8.		
Laemmli Sample Buffer Concentrated 3X	CL6200	1 ml
Mélanger 2 volumes d'échantillon + 1 volume de Laemmli Buffer	CL6201	15 ml
	CL6202	30 ml
Laemmli Sample Buffer Concentrated 5X	UVA860	30 ml
Uptima™ Bromophenol Blue Loading Dye 10X	HO7500	10 ml
Contient du Bleu de Bromophénol et du Cyanol Xylène. Electrophorèse des DNA et protéines.		
Uptima™ SDS-PAGE Loading Buffer 2X	44670A	6 ml
Contient du SDS, DTT, Glycérol, Bleu de Bromophénol, Tris HCl		
Bromophenol Blue	03985A	25 g
Bromophenol Blue Sodium Salt	848110	50 g

Plus jamais :



Gardez votre gel parfait !

Crack free

Le kit Crack-Free permet un séchage des gels de polyacrylamide pour un résultat sans fissures pour les techniques de radiographie, densitométrie, autoradiographie et le stockage permanent.

Il est composé d'une solution unique et de feuilles de cellophane qui, assemblées, régulent le débit d'eau libérée du gel pour assurer un gel sans fissure de jusqu'à 20% de polyacrylamide. Disponible en deux concentrations : 4X et 1X, chaque kit contient 500 ml de solution (4X ou 1X) et des feuilles de cellophane.

	Concentration : 4X	Concentration : 1X
Crack-Free Kits	U50450 -1kit	U50451 -1kit
Contient :		
Volume de réactif (concentration) :	500 ml (4X)	500 ml (1X)
Nombre de feuilles de cellophane (20 x 20 cm) :	20	10
Nombre de gels (midi [20 x 20 cm] / mini [10 x 10 cm]) :	20/40	5/10



Colorants de gels pour protéines

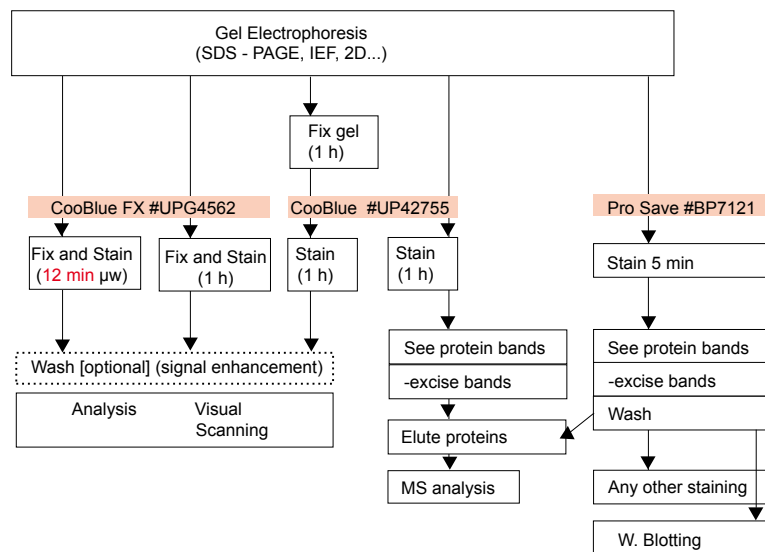
Les colorations par Coomassie® et Nitrate d'argent sont les principales colorations des protéines en gel d'électrophorèse. La demande croissante de colorants de plus en plus sensibles, compatibles avec la récupération des protéines par électro-élution, avec l'analyse en immunoblot et en spectrométrie de masse, a favorisé le développement de nouveaux colorants incluant les colorants fluorescents et des marqueurs des glycosylations.

Interchim propose ci-dessous de nombreux colorants couvrant la plupart des applications en laboratoire.

Produit	Sensibilité	Type		Supports	Applications compatibles				
		Chromo-génique	Fluoro-génique		MS	Séquençage	Blotting	Electro-elution	In-Gel
CooBlue Instant	< 20 ng (8-10ng)	+		Gel SDS-PAGE, 2D	++	++	+	++	-
CooBlue FX Instant	< 20 ng (8-10ng)	+		Gel	non	non	non	non	-
Coomassie blue		+		Gel	non		non	non	-
Lumitein™ Protein Gel Stain	<1 ng		+	Gel 1D/2D	+	+			
Protein Gel Stain 100X, RED Epicocconone based	<50 pg		+	Gel 1D/2D, PVDF, NC	+	+			
Silver staining		+		Gel	+		non	non	-
ProSave	1 ng	+		Gel	+++	++	++	++	

D'autres colorants sont disponibles sous forme de poudre, pour les colorations protéiques, glycoprotéiques (marquage par oxydation au périodate/amination réductrice)

Guide de sélection





Les plus :

- **Rapide :**

Colorez et lisez directement ! (pas de décoloration)

- **Très sensible :**

<10-20 ng (jusqu'à 8-10 ng selon les conditions) de protéines par bande

- **Fixation douce** des protéines :

Pas de dénaturant, conserve les protéines dans sa forme native.

- **Compatibilités** avec les analyses en aval:

Analyses de gel (coloration argent) et analyse des protéines (MALDI TOF)/

Extraction des protéines (électroélution)

- **Sans danger et respectueux de l'environnement :**

Absence de méthanol et d'acide acétique.

CooBlue Instant Stains

La coloration CooBlue Instant Stain est une alternative supérieure au traditionnel Bleu de Coomassie, sur la base d'une formulation colloïdale. Respectueux de l'environnement, ce colorant prêt à l'emploi ne contient ni méthanol, ni acide acétique et ne requière aucun solvant pour la décoloration. Les bandes de protéines sont directement visibles durant la coloration.

Après coloration, un lavage simple et rapide en eau éclaircit le fond du gel, permettant une sensibilité optimale. A la différence des colorants classiques de Coomassie, le CooBlue Instant ne requière pas plusieurs étapes de décoloration.

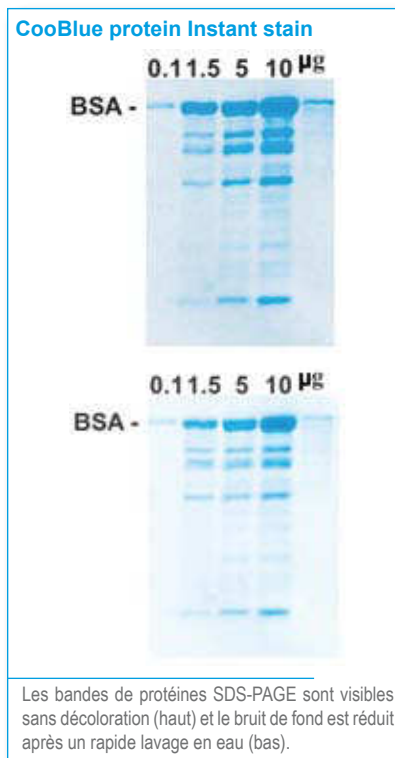
Cette procédure permet de gagner un temps précieux tout en réduisant la manipulation des matières dangereuses et les déchets de solvant dans votre laboratoire.

Les colorants CooBlue existent sous deux formulations :

Le **CooBlue FX Protein Instant Stain** dédié à l'analyse des protéines après électrophorèse

Le **CooBlue Protein Instant Stain** dédié à l'extraction des protéines par élution après électrophorèse

Produit	Réf.	Qté
CooBlue FX Protein Instant stain (analytical)	UPG4562A	500 ml
Contient 2 solutions (révélateur, solution de développement). 500 ml pour 20-25 minigels	UPG4562B	4,5 L
CooBlue Protein Instant stain (extraction)	UP47255A	500 ml
Contient 2 solutions ((révélateur, solution de développement) pour 20-25 minigels	UP47255B	4,5 L





ProSave Protein Gel stain

Colorant de gel ultra-rapide, facile d'utilisation, sensible, flexible :
colorez le gel, pas les protéines !

Le kit ProSave protein Gel Stain vous permet d'obtenir des résultats de haute qualité en **moins de 5 minutes**, contrairement aux méthodes classiques, telles que le Nitrate d'argent, le Coomassie ou la coloration au Ruby, qui demande quelques heures de protocoles.

Il visualise négativement TOUTES les protéines, y compris les glyco-, phospho et lipo-protéines ainsi que d'autres protéines classiquement difficiles à colorer.

Les gels colorés au ProSave peuvent être visualisés par tout transilluminateur.

Les protéines sont préservées des interactions et de la fixation du colorant, un net avantage pour les applications en aval telles que l'analyse MS, pour les protéines sensibles avec gels non dénaturants.

Compatibilités :

- Re-coloration par tout autre procédé (Coomassie, Silver, Ruby, Lumitein, Epicocconone)
- Électrotransfert sur membranes PVDF ou Nitrocellulose pour immunoblotting
- Électroélution pour la récupération des protéines
- Spectrométrie de masse (le ProSave a généralement le taux le plus élevé de bonnes annotations)
- Analyse des amino-acides
- Le séquençage N-terminal

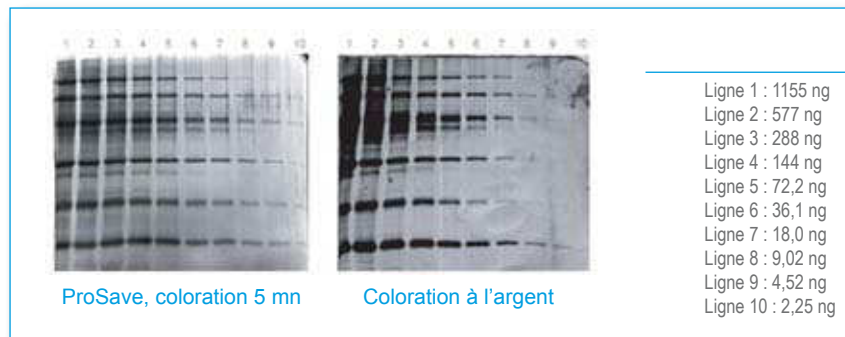
Mais aussi

Le kit ProSave protein Gel Stain **visualise également les acides nucléiques** (5-100 pg ADN, 1 µg ARN). Il a permis d'identifier 3-4X plus de transformants qu'avec le bromure d'éthidium excité sous UV à 312 nm.

Le kit ProSave protein Gel Stain est :

- Non toxique pour l'utilisateur
- Stable
- Plus économique que le Coomassie, les méthodes fluorescentes et les colorations à l'argent.

Produit	Réf.	Qté
ProSave protein 5 min Stain	BP7123	125 ml
Contient 2 solutions (révélateur, solution de développement) suffisant pour colorer 20-25 mini-gels	BP7124	500 ml
5X ProSave protein 5 min Stain	BP7126	125 ml



ProSave et l'Essentiel :
Une coloration négative pour un résultat positif !

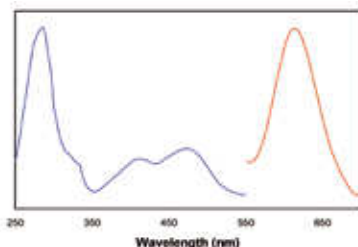
- **Rapide** : Moins de 5'
- **Etape unique** : pas besoin de fixer le gel
- **La plus grande sensibilité** :
1 ng de protéines - 5-100 ng d'ADN
- **Bonne gamme dynamique** : 1-2000 ng
- **Economique**
- **Pas d'interaction** :
Ne modifie pas ou n'interagit pas avec les protéines, conserve leur structure (gels non dénaturants)
- **Détecter toutes les protéines**, même difficiles avec un minimum de variation protéines à protéines.
- **Complet et rapidement réversible** : 5-7 min
- **Compatible** avec les applications en aval : re-coloration, élution, WB, MS, séquençage, analyse des AA.



Simple, sensible :

La meilleure alternative au Rubis !

Spectre d'émission et d'excitation



Excitation maxi : ~280 nm
 Large excitation visible : ~450 nm
 Emission dans le rouge vif : ~610 nm

Lumitein™ Protein Gel Stain

Très sensible, très rapide et bien plus encore...

Le **Lumitein™ Protein Gel Stain** est un colorant de protéines en gel d'acrylamide SDS-PAGE en conditions natives.

- **Très sensible** : au moins aussi sensible que le nitrate d'argent (<1 ng de protéines détectées) ; révèle plus de spots que le concurrent Ruby en coloration de gel 2-D.
- **Simple et rapide** : fixation et coloration en une étape. Protocole rapide de 30 min pour d'excellents résultats, ou protocole de 90 min pour une sensibilité ultime en gel 1-D.
- **Compatible** : tous instruments : UV à ~280 nm (UV-box) ou fluorescence exc.~450 nm/em.~610 nm (Dark Reader, scanner,...).
- **Large plage de détection linéaire** : au moins trois ordres de magnitude.
- **Compatible** avec l'analyse en aval : LC-MS/MS et séquençage.
- **Economique** : la solution concentrée 100X réduit les coûts de fabrication et de transport.
- **Stable** : au moins 1 an à température ambiante

Produit

Produit	Réf.	Qté
Lumitein™ Protein Gel Stain 100X	CJ5260	2 ml
	CJ5261	10 ml
	CJ5262	50 ml
Lumitein™ Protein Gel Stain 1X	CI9760	200 ml
	CJ5261	1 L

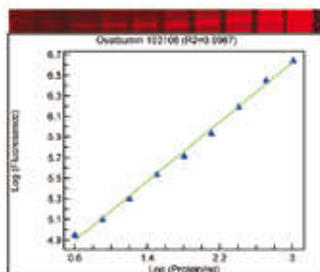
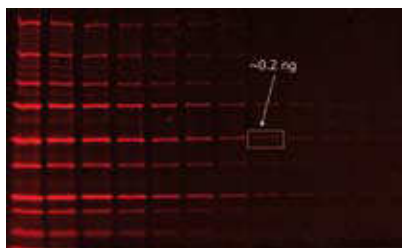


Image prise par GE Typhoon Trio gel scanner avec une excitation à 532 nm et un filtre d'émission 610BP30. La quantification des bandes utilise l'analyse de volume ImageQuant.

Série de dilution du Precision Plus protein standard



Lumitein



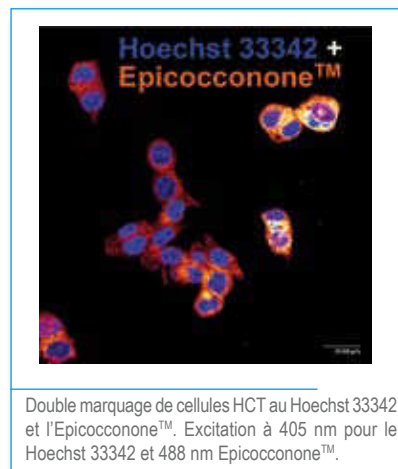
Coomassie



Protein Gel Stain 100X, RED Epicocconone based

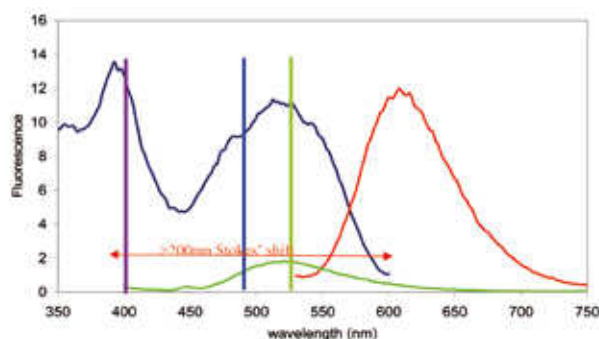
Le kit FluoProbes® Protein Gel Stain 100X se lie de manière **réversible** aux protéines et aux peptides pour donner une coloration fluorescente rouge intense en vue de la quantification en gel 1D et 2D mais également sur membranes PVDF, nitrocellulose et est compatible avec la Spectrométrie de masse.

- **Flexibles** : Coloration des protéines séparées par électrophorèse 1D ou 2D sur des gels natifs ou de dénaturés. Le kit est également approprié à la fois pour le PVDF et les membranes de nitrocellulose.
- **Compatible** : La coloration réversible rend le kit compatible avec les techniques en aval (MS, immuno-coloration et le séquençage Edman). Il montre une meilleure compatibilité en MS que les produits concurrents.
- **Respectueux de l'environnement** : Le kit FluoProbes® Protein Gel Stain est basé sur une structure améliorée de l'épicocconone sans danger et simple à éliminer
- **Santé et sécurité** : ne requiert aucun stockage et manipulation d'acide acétique volatile et corrosif, de colorants à base de métaux lourds ou toxiques.
- **Simple et pratique** : Le protocole est simple (4 étapes) et rapide (3h).
- **Sensible** : le kit fournit de manière fiable une sensibilité <50 protéines standard avec une gamme de poids moléculaire.
- **Compatible Multiplex** : avec d'autres fluorophores (par exemple : les sondes FluoProbes®), d'autres colorants (par exemple Coomassie™).
- **Faible bruit de fond, absence de tâches**



Produit	Réf.	Qté
Protein Gel Stain 100X, RED Epicocconone based	FP-1K952E	2 ml (200 ml final)
	FP-1K9520	10 ml (1 L final)
	FP-1K9521	50 ml (5 L final)

Spectre de l'épicocconone



Excitation :

Longueur d'onde optimal : 543, 532 nm.

Convient aux sources de lumière incluant le vert (e.g. 543, 532 nm), bleu (e.g. 488 nm); violet (e.g. 405 nm) ou UVA (400 nm).

Emission :

La longueur d'émission maximum : 610 nm, quelque soit la source d'excitation.

Les filtres adéquates incluent soit un filtre à 610 nm, soit un filtre à 560 nm avec une large bande passante. La fluorescence peut être lue par plusieurs plateformes telles que l'imagerie à fluorescence, le fluorimètre, les lecteurs de plaques fluorescents, les scanners à laser.



Biochimiques pour la détection de protéines en gels

Alcian Blue

PM : 1298-1408

λ_{abs} : 615-670 nm

Soluble en eau

Utilisé pour marquer les glucosaminoglycanes et polysaccharides acides dans les tissus. Marqueur des bactéries.

Produit	Réf.	Qté
Alcian Blue 8 G	N12350	50 g
	N12351	100 g

Coomassie® Brilliant Blue G-250

PM : 825,99

λ_{abs} : 585 nm

Soluble en eau

Coloration des protéines après séparation électrophorétique (SDS-PAGE, Agarose, PVDF). Plus soluble et plus sensible que le colorant G250.

Produit	Réf.	Qté
Coomassie® Brilliant Blue G250	077583	25 g
	077584	50 g

Coomassie® Brilliant Blue R-250

PM : 854,04

λ_{abs} : 610 nm

Soluble en eau

Coloration des protéines après séparation électrophorétique (SDS-PAGE, Agarose, PVDF). Utilisé pour détecter la concentration protéique par la méthode de Bradford.

Produit	Réf.	Qté
Coomassie® Brilliant Blue R250	115253	10 g
	115254	25 g

Congo Red

PM : 696,67

λ_{abs} : 610 nm

Soluble en eau

Coloration des protéines en général pour les gels SDS-PAGE et gels d'agarose ; utilisé également pour le diagnostic des dépôts de substance amyloïde.

Produit	Réf.	Qté
Congo Red	FP-N12511	1 g
	FP-N12512	100 mg (Fluoprobes® Ultrapur)
	FP-AQ3370	100 tests



Eosin Yellow

PM : 691,88

λ_{abs} : 517 nm

Soluble en DMSO/DMF

Colorant réversible des protéines et peptides après SDS-PAGE ; utilisé pour la récupération protéique et la caractérisation en spectrométrie de masse.

Produit	Réf.	Qté
Eosin Yellow	FP-QX7825	15 ml
	FP-QX7827	250 ml

Fast Green, FCF-Certified

PM : 808,86

λ_{abs} : 622 nm

Soluble en DMSO/DMF

Coloration des protéines pour les électrophorèse PAGE natives, SDS-PAGE et particulièrement les gels IEF (IsoElectric Focussing ou électrofocalisation).

Produit	Réf.	Qté
Fast Green, FCF-Certified	GS3050	25 g

Marqueurs conjugués hydrazide

Les marqueurs conjugués hydrazide (biotine, fluorophores etc...) peuvent être utilisés pour marquer les glycoprotéines par l'oxydation du périodate/amination réductrice.

Produit	Réf.	Qté
Biotin-PEO-Hydrazine	BJ0088	10 mg
Biotin Hydrazide	FP-364663	25 mg
Biocytin Hydrazide	FP-227723	25 mg
7-Diethylaminocoumarin-3-Carboxylic Acid, Hydrazide (DCCH)	FP-46719A	25 mg
SulfoRhodamine101 Hydrazide (SR101-hydrazide)	FP- 31036A	5 mg
5(6)-Rhodamine 110 Hydrazide	FP-BT7730	5 mg
Dabsyl hydrazide	FP-AY7720	100 mg
FluoProbes® 547H-Hydrazide	FP-1H1200	1 mg
FluoProbes® 647-Hydrazide	FP-1J4050	1 mg
FluoProbes® 647H-Hydrazide	FP-1N1760	1 mg
FTSC	FP-47552C	50 mg
	FP-47552D	100 mg
CY _{anine} 3 Hydrazide	FP-SJH870	1 mg
	FP-SJH871	5 mg
	FP-SJH872	25 mg
	FP-SJH873	50 mg
	FP-SJH874	100 mg
CY _{anine} 5 Hydrazide	FP-IO2490	1 mg
	FP-IO2491	5 mg
	FP-IO2492	25 mg
	FP-IO2493	50 mg
	FP-IO2494	100 mg
DiSulfo-CY _{anine} 3 - Hydrazide, (555/565 nm)	FP-LQV050	1 mg
DiSulfo-CY _{anine} 5 - Hydrazide, 2 CF3CO2- salt	FP-LQV110	1 mg



FluoProbes®



Marqueurs Fluorescents CYanine conjugués

Permettent un marquage des protéines de façon calibrée pour les analyses différentielles, avec PM et charge similaire entre les 3 colorants.

Produit	Réf.	Qté
CY _{anine} 2 NHS ester minimal dye	FP-LV2330	5 nmol
	FP-LV2331	10 nmol
	FP-LV2332	25 nmol
CY _{anine} 3 NHS ester minimal dye	FP-1H4680	5 nmol
	FP-1H4681	10 nmol
	FP-1H4682	25 nmol
CY _{anine} 5 NHS ester minimal dye	FP-SJH900	5 nmol
	FP-SJH901	10 nmol
	FP-SJH902	25 nmol
DMF labeling grade	FP-1G2390	1 ml

Nile red

PM : 318,37

λ_{abs} : 552/636 nm

Soluble en DMSO/DMF

Colorant général des protéines pour les gels PAGE, SDS-PAGE et IEF (IsoElectric Focusing ou électrofocalisation).

Sonde de polarité fluorescente pour la structure des protéines et sa configuration.

Blot direct, séquençage.



Produit	Réf.	Qté
Nile Red	FP-46875A	25 mg

Oil red O

PM : 408,51

λ_{abs} : 518 nm

Soluble en DMSO/DMF

Colorant des lipides/lipoprotéines sur acétate de cellulose.

Produit	Réf.	Qté
Oil Red O (Sudan Red 5B)	N13002	100 g
Oil Red O (Sudan Red 5B) Solution	FP-AQ3690	100 tests

Ponceau S

PM : 760,58

λ_{abs} : 520 nm

Soluble en eau

Colorant réversible et rapide des protéines sur membrane de nitrocellulose, acétate de cellulose et PVDF.

Produit	Réf.	Qté
Ponceau S	050260	25 g
Ponceau S 1X Solution	200785	50 ml
	200786	500 ml



FluoProbes®

Silver Nitrate

PM : 169,87

Coloration des protéines après électrophorèse.
Utilisation pour déterminer les ions chlorure en solution.



Produit	Réf.	Qté
Silver Nitrate	151681	25 g
	151682	100 g

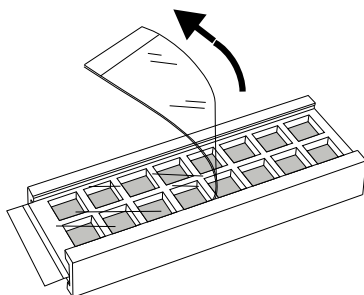
Extraction de protéines à partir de gel d'électrophorèse

Voir notre chapitre BIOPURIFICATION / Extraction, Isolation

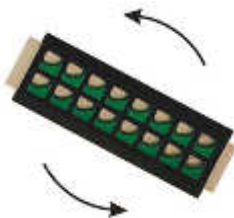




L'absence d'adhésifs fait que les lames sont assemblées et démontées rapidement pour être lues dans des lecteurs de chip.



Les bandes d'étanchéité démontables facilitent les mélanges et empêchent l'évaporation.



Pour améliorer l'efficacité des hybridations, le mélange peut être effectué avec les puits fermés remplis partiellement. L'agitation sera rotative.

Expression des protéines : Analyse par Microréseaux

ProPlate™ Multi-array Slide System

Reverse Phase Protein Array system (RPPA)

Les systèmes ProPlate Protein Array sont constitués d'une lame de microscope sur laquelle une matrice est fixée pour diviser la lame en 16 positions individualisées et bien définies. 4 lames tiennent sur un plateau, ce qui donne une plaque modulable de microtration de 64 puits qui sera lue sur des lecteurs de chip classiques.

Produit	Réf.	Qté
ProPlate™ multi-array slide module Inclus : 4 modules de 16 puits et 2 clips Delrin	FP-BC4791	2 u
ProPlate™ multi-array system Inclus : modules de 16 puits, un plateau et son couvercle, 10 bandes de fermeture étanches et 1 applicateur - 16 puits carrés de 7 x 7 mm, dimensions extérieures : 25 x 75,75 mm	FP-BC4781	1 set
ProPlate™ adhesive seal-strips Inclus : 50 couvercles et 1 applicateur	FP-BC4801	1 set
ProPlate™ tray and cover Inclus : un plateau et 1 couvercle	FP-BC4811	1 set

- Forme jusqu'à 16 puits étanches sur n'importe quelle surface sans adhésifs
- La disposition des micro-puits permet l'utilisation de pipettes multi-canaux
- Les puits de 7 x 7 mm sont parfaits pour de gros volumes
- Les volumes de puits de 15 à 350 µl permettent des petits volumes de réactifs et des gros volumes de lavages



FlexWell™ removable incubation chambers

Les systèmes FlexWell™ sont des chambres d'incubation amovibles pour microarray sur films Oncoyte® coatés avec de la nitrocellulose.

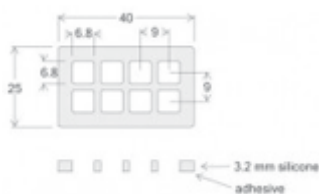
- Le silicone FlexWell™ forme des puits sur des lames en utilisant un adhésif pour isoler jusqu'à 16 échantillons par lame
- Les lames et FlexWell™ s'adaptent dans un plateau réutilisable et forment un analogue de plaque de microtitration SBS
- Les plaques doivent être scellées pour éviter l'évaporation et permettre une agitation efficace

Disponible en formats 8 ou 16 puits

Les chambres d'incubation FlexWell™ sont formées par des joints en silicone fixés sur des lames de microscope standards pour le traitement de petits échantillons ou des applications à hauts débits. Elles sont chimiquement inertes et adhèrent sur le verre par l'emploi d'un adhésif bio compatible. Elles existent en formats 8, 16 et 96 chambres et peuvent être fabriquées sur demande en toutes dimensions. Les espaces entre les chambres sont compatibles avec l'utilisation de pipettes multi-canaux. Les bandes d'étanchéités assurent une évaporation et des contaminations croisées minimales. Les applications incluent le marquage cellulaire et des incubations dans de multiples conditions, des analyses en micro array, des hybridisations in situ et la microscopie.

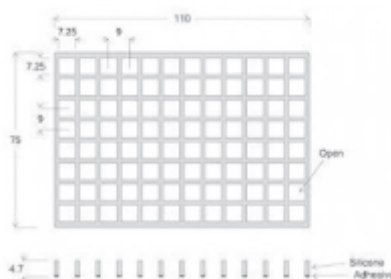
FlexWell 8 puits

Puits de 6,5 x 6,5 mm, profondeur de 3,2 mm
 dimensions extérieures 25 x 40 mm
 Silicone clair - Adhésif sur un côté
 #FP-JZ7650, 10 u



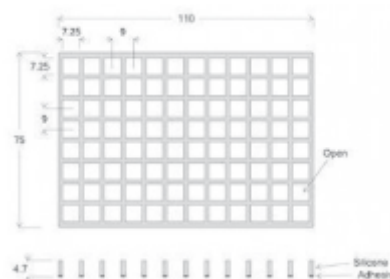
FlexPlate 96 puits carrés

Puits de 7,25 x 7,25 mm, profondeur de 4,5 mm
 dimensions extérieures 110 x 75 mm,
 Silicone clair - Adhésif sur un côté, entourage noir
 #FP-IWP410, 1 u



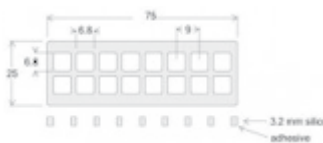
FlexPlate 96 puits carrés

Puits de 7,25 x 7,25 mm* profondeur de 4,5 mm
 dimensions extérieures 110 x 75 mm,
 Silicone clair - Adhésif sur un côté
 #FP-IWP400, 5 u



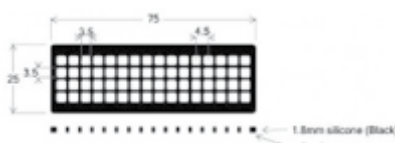
FlexWell 16 puits

Puits de 6,5 x 6,5 mm, profondeur de 3,2 mm
 dimensions extérieures 25 x 75 mm
 Silicone clair - Adhésif sur un côté
 #FP-JZ7640, 10 u



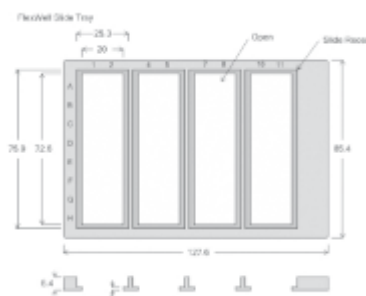
FlexPlate 64 puits

Puits de 3,5 x 3,5 mm, profondeur de 1,8 mm
 dimensions extérieures 25 x 75 mm
 Silicone noir - Adhésif sur un côté
 #FP-HO5910, 5 u



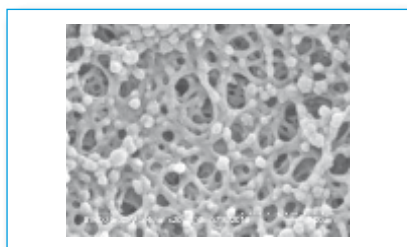
Flexwell plateau pour 4 lames

Dimensions du plateau 75,9 x 127,6 mm
 #FP-JZ7590, 10 u



Flexwell Seal Strips

Surface couverte 24 x 77 mm
 #FP-JZ7820, 50 u



ONCYTE® Nitrocellulose Film Slides

Les lames de nitrocellulose (PNC) ONCYTE® offrent un substrat de microréseau à haute liaison de protéine. Ce film microporeux tridimensionnel est composé d'un polymère de nitrocellulose propriétaire qui maintient stable les structures quaternaires des protéines fournissant un substrat idéal de micro-réseau pour une variété d'applications. Le film Oncyte fournit la meilleure surface lors de l'exécution de réseau en phase reverse de lysat, de protéines, d'anticorps, d'antigènes ou de peptides dans des systèmes de détections colorimétriques, fluorescents ou proche infrarouge

● Lames ONCYTE® pour lames de verre

	ONCYTE® AVID	ONCYTE® NOVA	ONCYTE® SuperNOVA
Capacité de liaison	++++ La plus forte capacité de liaison, avec une plage dynamique importante.	++ Bruit de fond de fluorescence et une capacité de liaison plus faible que le système AVID	++++ Faible bruit de fond en fluorescence, haute capacité de liaison.
Bruit de fond de Fluorescence	++++	+++ (taille de pore plus grands et moins hydrophobes).	++
Plage dynamique (échelle log)	5-6 ONCYTE® AVID est le meilleur pour toute application requirant une haute capacité de liaison et une détection colorimétrique.	5-6	7+ ONCYTE® Super Nova est meilleur pour la détection en fluorescence et grande plage dynamique.
De lot à lot	+++	+++ ONCYTE® NOVA a un bon ratio signal/bruit en détection par fluorescence.	+++
Hydrophobicité	+	+	++

1 : peut affecter la taille du spot

Nbre de blocs	Dimensions (mm)	Réf.	Nbre de blocs	Dimensions (mm)	Réf.	Nbre de blocs	Dimensions (mm)	Réf.
1	15 x 69	305101	1	20 x 60	505177	1	21 x 17	705278
1	20 x 60	305177	1	20 x 51	505170	1	20 x 60	705177
1	21 x 71	305278	1	15 x 69	505101	1	20 x 51	705170
1	20 x 51	305170	2	15 x 32	505102	1	15 x 69	705101
2	20 x 20	305002	2	20 x 20	505002	2	20 x 20	705002
2	15 x 32	305102	3	20 x 20	505103	2	15 x 32	705102
3	20 x 20	305103	4	15 x 15	505004	3	20 x 20	705103
4	15 x 15	305004	8	6 x 15	505108	4	15 x 15	705004
8	6 x 15	305108	8	6 x 6	505008	8	6 x 6	705008
8	6 x 20	305118	8	6 x 20	505118	8	6 x 15	705108
8	6 x 6	305008	12	6 x 6	505012	8	6 x 20	705118
12	6 x 6	305012	16	6 x 6	505016	12	6 x 6	705012
16	6,5 x 6,5	305116	16	6,5 x 6,5	505116	16	6,5 x 6,5	705116
16	6 x 6	305106	64	2,5 x 2,5	505064	16	6 x 6	705016
64	2,5 x 2,5	305064				64	2,5 x 2,5	705064

● Lames ONCYTE® en format large - pour plaques de microtitration

Type de lamelles	Nombre de blocs	Dimensions (mm)	Forme	Réf.
ONCYTE® AVID	96	6 x 6	carrée	305196
ONCYTE® NOVA	96	6 dia	ronde	505096
ONCYTE® NOVA	96	6 x 6	carrée	505196
ONCYTE® AVID	96	6	ronde	305096
ONCYTE® SuperNOVA	96	6 x 6	ronde	705096
ONCYTE® SuperNOVA	96	6 x 6	carrée	705196
ONCYTE® AVID	384	2,5 x 2,5	carrée	305384
ONCYTE® NOVA	384	2,5 x 2,5	carrée	505384
ONCYTE® SuperNOVA	384	2,5 x 2,5	carrée	705384



Tampons et Saturants pour Microréseaux

- **GBL Protein Array Buffer**

Le Super G Blocking Buffer est un réactif sans protéine conçu pour bloquer les liaisons non spécifiques des protéines sur les membranes de nitrocellulose. Il a été développé en particulier pour améliorer les dosages fluorescents multiplexés. Il réduit significativement le bruit de fond fluorescent tout en maintenant la capacité des membranes de nitrocellulose coatées à interagir de façon spécifique avec les protéines. Il est fourni en solution 1X, prêt à l'emploi, pour les applications de microréseau.

Produit	Réf.	Qté
Super G Blocking Buffer	FP-LO8970	100 ml
	FP-LO8971	500 ml

- **Super G Protein Preservatives**

Le réactif Super G associe un agent de blocage efficace des liaisons non spécifiques des protéines sur des films polymères, avec des composants supplémentaires optimisés pour préserver à long terme les protéines. Ce réactif est conçu en particulier pour le Microréseau. Cette formulation améliore les performances de dosage de diverses protéines stockées pendant de longues périodes après immobilisation sur films polymères. (Voir la section Microréseau).

Produit	Réf.	Qté
Super G Plus Protein Preservative	FP-IWR950	100 ml



Technical Tip

Reporter assays

La technique de gène rapporteur est largement répandue pour les mesures de l'expression ou de l'activité des protéines promoteurs. Une séquence promoteur ciblant un élément de réponse est lié à gène rapporteur détectable qui encode une protéine fluorescente telle que la GFP ou une luciférase (Firefly luciferase, Renilla Luciferase, SEAP ou β -Galactosidase). Du fait de leur vitesse d'action, leur gamme dynamique, leur sensibilité et leur faible coût d'utilisation en ELISA, luminescence ou fluorescence, les dosages des SEAP et Luciférase sont des outils indispensables pour les études des voies de régulation.

Tests Rapporteurs des protéines (reporter assays)

• Split GFP et SuperFolder GFP

Ce système GFP innovant augmente le rapport signal/bruit, règle les problèmes de solubilité d'aggrégation et d'interactions protéines-protéines.

• EvoGlow GFP

Cette protéine rapporteur fluorescente unique peut être utilisée aussi bien en système aérobie que qu'anaérobie.

• Luciferase assays, Luciferins et Coelenterazines

Uptima et FluoProbes fournissent des substrats de Luciferases et β -Galactosidase de haute qualité et des kits Luciferase reporter efficaces.

Split GFP et SuperFolder GFP, une protéine fluorescente vert innovante

Les Splits GFP et SuperFolder GFP augmentent l'efficacité des applications standards et des innovantes !



- **Quantifie** plus précisément le niveau d'expression d'une protéine cible
- **Localise** l'expression de la protéine cible dans la cellule avec une distribution plus naturelle
- **Détermine** la solubilité de la protéine cible et quels domaines sont solubles
- **Evalue** comment 2 protéines interagissent (interaction Protéine/protéine)
- **Evalue** l'influence d'une petite molécule sur le repliement des protéines

Produit	Réf.	Qté
<i>In Vitro</i> Mammalian Optimized Split GFP Fold-N-Glow Solubility Assay - Mammalian S11 Single Plasmid	22004003	
<i>In Vitro</i> Mammalian Optimized Split GFP Fold-N-Glow Solubility Assay Kit	25004001	84 tests
<i>In Vitro</i> Bacterial Split GFP Fold-N-Glow Solubility Assay - Bacterial S11	21004003	
<i>In Vitro</i> Bacterial Split GFP Fold-N-Glow Solubility Assay Kit	20004001	84 tests
<i>In Vitro</i> Split GFP Fold-N-Glow Solubility Assay - Positive Control	21004002	
<i>In Vitro</i> Split GFP Fold-N-Glow Solubility Assay - Universal Detection Reagent	21004001	
Superfolder GFP Expression Plasmid	23004006	

Contactez Interchim pour plus d'information sur ce système rapporteur des protéines innovant à interbiotech@interchim.com



EvoGlow GFP, les protéines fluorescentes anaérobies

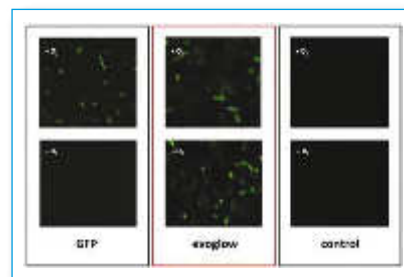
Les protéines rapporteuses fluorescentes sont des outils moléculaires non invasifs pour l'imagerie in-vivo en temps réel des cellules et tissus vivants et pour le marquage fluorescent. Le problème majeur des protéines rapporteuses GFP-like est leur besoin indispensable en oxygène comme co-facteur dans la synthèse de leur chromophore. Les applications anaérobiques sont donc impossibles.

Les protéines fluorescentes sur base de flavine mononucléotide (FMN) (FbFPs) de la série des evoglow® ont été développées pour éliminer ce problème. **Les protéines evoglow® sont des rapporteurs fluorescents aussi bien en aérobie qu'en anaérobie.**

Le terme Evoglow® correspond à une nouvelle génération de protéines fluorescentes avec un co-facteur Flavin-mono-nucléotide. Ces protéines développent une fluorescence bleu-vert brillante même en l'absence totale d'oxygène. Elles se replient rapidement et permettent une détection immédiate de l'expression des processus inter et intra cellulaire. Puisque leurs intensités et spectres d'absorption et d'émission sont de mêmes grandeurs que celles des autres protéines fluorescentes, les mêmes systèmes de détection sont utilisables.

- evoglow® Plasmid Kits : Les kits Evoglow® Plasmid permettent clonage et expression faciles des genes Evoglow®.

- evoglow® Antibodies : Les anticorps Evoglow® sont destinés à la détection spécifique des rapporteurs fluorescents en Western Blot.



• Evoglow® Plasmid Kits pour les protéines fluorescentes anaérobiques

- **evoglow® Basic Kit** : Les kits basiques sont destinés au clonage facile des gènes evoglow® dans les systèmes vecteurs spécifiques des utilisateurs. Il inclut 3 variants différents de protéines evoglow® avec ou sans codon Stop 6 plasmides à nombre de copies élevées. Les plasmides se répliquent parfaitement chez E. Coli et sont d'excellent modèles pour PCR. De plus, ils portent une grande variété de sites de restriction pour des clonages directs dans des systèmes vecteurs spécifiques.

- **evoglow® Express Kit** : Les kits evoglow® express incluent une gamme de plasmides destinés à une expression efficace dans une large gamme d'organismes gram-négatifs hôtes. Les protéines peuvent être exprimées soit sous le contrôle du promoteur T7 inductible soit de façon constitutive (promoteur kan).

- **evoglow® Fusion Kit** : Les kits evoglow® fusion servent à la transcription des protéines de fusion. Ils contiennent des plasmides dans lesquels les gènes evoglow®-gene sont encadrés par des sites de clonages multiples symétriques (MCS) ce qui permet des clonages dans un site de restriction unique i.e. pour les études des activités de promoteurs ou pour des études physiologiques plus poussées.

- **evoglow® Yeast Kit** : Les kits evoglow® yeast servent à l'amélioration de l'expression des protéines fluorescentes dans les levures et organismes similaires. Ils incluent des plasmides dans lesquels les gènes evoglow® sont contrôlés par différents promoteurs de levures (Gal et Act). Vous pouvez choisir entre des plasmides contenant un seul gène Evoglow ou 2 gènes fusionnés.

- **evoglow® Clostridia Kit** : Les kits evoglow clostridia expriment Evoglow chez Clostridia. Ils incluent les plasmides pGlow-C-Bs2 (Bacillus subtilis) et pGlow-C-Pp1 (Pseudomonas putida) pour les bactéries Gram-positives et Gram-négatives respectivement. Les gènes sont clonés avec SacI / BamH1 dans le site de clonage multiple de pUCC18 permettant le sous-clonage individuel sous le contrôle du promoteur de votre choix.

Contactez interbiotech@interchim.com pour des variants optimisés à usage de codon des protéines fluorescentes evoglow.



Références :

Drepper et al. (2007) Reporter proteins for in vivo fluorescence without oxygen. *Nature Biotech.* 25 (4):443

Tielker et al. (2009) Flavin Mononucleotide-Based Fluorescent Protein as an Oxygen-Independent Reporter in *Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Eukaryotic Cell* 8 (6):913

Ernst et al. (2009) Responses to hypoxia in fungal pathogens. *Cellular Microbiology* 11 (2):183

Kensy et al. (2009) Validation of a high-throughput fermentation system based on online monitoring of biomass and fluorescence in continuously shaken microtiter plates. *Microbial Cell Factories* 8:31

Huber et al. (2009) Robo-Lector – a novel platform for automated high-throughput cultivations in microtiter plates with high information content. *Microbial Cell Factories* 8:42

Produit	Réf.	Qté
evoglow® Basic Kit	FP-21010	1 Kit
pGLOW-Bs1	FP-21011	2 Plasmides
pGLOW-Bs2	FP-21012	2 Plasmides
pGLOW-Pp1	FP-21013	2 Plasmides
evoglow® Express Kit	FP-21020	1 Kit
evoglow® ExpressTN Kit	FP-21021	1 Kit
evoglow® ExpressKN Kit	FP-21022	1 Kit
pGLOW-TXN-Bs1	FP-21023	1 Plasmide
pGLOW-TXN-Bs2	FP-21024	1 Plasmide
epGLOW-TXN-Pp1	FP-21025	1 Plasmide
pGLOW-KXN-Bs1	FP-21026	1 Plasmide
pGLOW-KXN-Bs2	FP-21027	1 Plasmide
pGLOW-KXN-Pp1	FP-21028	1 Plasmide
evoglow® Fusion Kit	FP-21030	1 Kit
pGLOW-FBs1	FP-21031	1 Plasmide
pGLOW-FBs2	FP-21032	1 Plasmide
pGLOW-FPp1	FP-21033	1 Plasmide
evoglow® Yeast Kit 1+2	FP-21040	2 Kits
evoglow® Yeast Kit 1	FP-21041	1 Kit
evoglow® Yeast Kit 2	FP-21042	1 Kit
pGLOW-ActXN-YT	FP-21043	1 Plasmide
pGLOW-ActXN-YT-double	FP-21044	1 Plasmide
pGLOW-GalXN-YT	FP-21045	1 Plasmide
pGLOW-GalXN-YT-double	FP-21046	1 Plasmide
evoglow® Clostridia Basic Kit	FP-21060	1 Kit
evoglow® Clostridia Expression Kit	FP-21061	1 Kit
evoglow® Whole Clostridia Kit	FP-21062	1 Kit
pGlow-C-Bs2	FP-21063	1 Plasmide
pGlow-C-Pp1	FP-21064	1 Plasmide
pGlow-CKXN-Bs2	FP-21065	1 Plasmide
pGlow-CKXN-Pp1	FP-21066	1 Plasmide

• Anticorps evoglow® pour protéines fluorescentes anaérobiques

Les anticorps Evoglow® sont produits chez le lapin en utilisant comme immunogène les protéines fluorescentes Evoglow. Les anticorps Evoglow® sont destinés à la détection spécifique des rapporteurs fluorescents en Western Blot.

Produit	Réf.	Qté
evoglow® Antibody Bs	FP-21051	70 Blots
evoglow® Antibody Pp	FP-21052	70 Blots

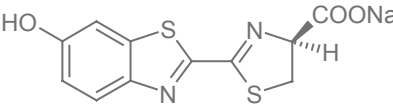
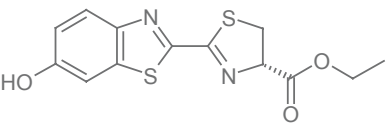
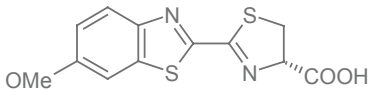
Tests Rapporteurs enzymatiques

Luciférines (substrats de la Luciférase)

Les Luciférines sont des biomolécules émettant des photons et sont très représentées chez plusieurs espèces marines, bactéries, protistes, poissons, insectes. Les luciférines synthétiques purifiées ont les mêmes propriétés que les naturelles isolées de lucioles (*Photinus pyralis*) et autres coléoptères mais avec des activités enzymatiques optimisées. Elles sont utilisées comme marqueurs très sensibles des expressions de gènes dans les plantes, bactéries, cellules de mammifères et pour le suivi de l'expression des gènes de baculovirus chez les insectes. La production de lumière peut être suivie avec tout type de luminomètres ou avec des compteurs à scintillation.

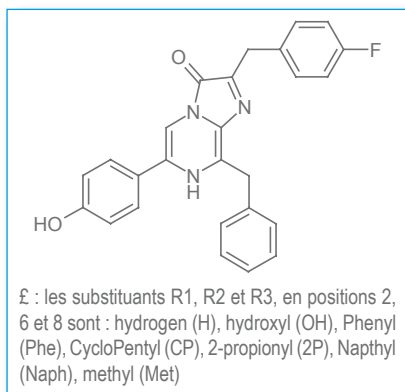
La réaction bio-luminescente de la D-Luciferin est la réaction naturelle la plus efficace connue : environ 90 % de l'énergie créée est convertie en lumière. La Bioluminescence est déviée vers le rouge en conditions acides ($\lambda_{em} = 617 \text{ nm}$). La formulation optimisée permet des résultats linéaires d'ordre de grandeur >8 par rapport à la concentration enzymatique avec 10-20 moles de luciférase.

Le système luciferin/luciférase sert principalement aux dosages de rapporteurs ou d'ATP.

Produit / Réf.	PM (Da)	$\lambda_{exc}/\lambda_{em}$ (nm)	mol. abs. ($M^{-1}cm^{-1}$)	Solubilité	Commentaires	
D-Luciferin, free acid FP-27060A 10 mg FP-270609 25 mg FP-27060B 50 mg FP-27060D 1 g	280,33	328 / 532	18 000	DMSO Pas solubles dans les tampons neutres	Préparer le tampon alcalin avant de dissoudre l'acide libre D-Luciferin, ensuite titrer au pH désiré.	
D-Luciferin, Na salt FP-72604A 25 mg FP-72604B 50 mg FP-72604C 1 g	302,30	328 / 533	17 000	eau pH > 6		
D-Luciferin, K salt FP-M1224A 25 mg FP-M1224B 50 mg FP-M1224C 500 mg FP-M1224D 1 g	318,42	328 / 533	17 000	eau pH > 6	La forme saline est recommandée en usage <i>in vivo</i>	
D-Luciferin, Ethyl ester FP-CF4421 10 mg	306,36					Analogue du substrat de base, perméable à la membrane avec une intensité d'émission de lumière 30% supérieure.
D-Luciferin, 6-methyl ester FP-M1418A 10 mg	294,3					Inhibiteur de la luciférase. Utile dans les essais de chemiluminescence en double luciférase/cytochrome P450.



FluoProbes® Uptima



Coelenterazines (substrats de la Luciférase et de l'apoeaquorin)

Les Coelenterazines sont des substrats bioluminescents des enzymes apoeaquorin et *Renilla luciferase* utilisées dans divers dosages biologiques tels que les mesures de Ca²⁺ et dosages ROS. Le développement des vecteurs des aequaporines a accéléré les dosages des gènes rapporteurs et des protéines rapporteuses marquées à l'aequaporin.

Les analogues des formes natives des coelenterazines Uptima et FluoProbes présentent des propriétés de luminescence uniques. Tous les analogues sont hautement purifiés (pureté > 98%) afin de garantir des résultats optimisés dans les dosages biologiques.

La Coelenterazine e possède un pont -CH₂CH- entre le 6-phenyl-OH et la position 2 du corps imidazopyrazinone

§ Data from BioChem. J. 261, 913(1989) [normal characters]

§§ Data from O.Shimoura in Cell Calcium 14, 373 (1993) for calcium measurements [smaller size and italic characters]

Produit	PM	R1	R2	R3	λ _{max}	Emission	Capacité de Luminescence	Intensité	Temps de demi
50 µg Réf.	1 mg Réf.	£	£	£	(nm)	(nm)	relative §	Relative §	augmentation
Coelenterazine Native									
972331	972331	423,50	OH	OH	Phe	465	1,00	1,00	0,4 - 0,8 s / 6 - 30 ms
Coelenterazine cp									
R30791	R30793	415,48	OH	OH	CP	442	0,95 / 0,63	20 / 28	0,15 - 0,3 s / 5 - 5 ms
Coelenterazine e									
	T8677B	449,50	OH	OH#	Phe	405 et 465	0,5	4	0,15 - 0,3
Coelenterazine f									
438761	438763	425,45	F	OH	Phe	473	0,80 / 0,80	18 / 20	0,4 - 0,8 s / 6 - 30 ms
Coelenterazine fcp									
R47111	R4713	417,48	F	OH	CP	452	0,57	135	0,4 - 0,8
Coelenterazine h									
R30781	R30782	407,50	H	OH	Phe	464	0,82 / 0,75	10 / 16	0,4 - 0,8 s / 6 - 30 ms
Coelenterazine hcp									
083532	083534	399,49	H	OH	CP	444	0,67 / 0,65	190 / 500	0,15 - 0,3 s / 2 - 5 ms
Coelenterazine i									
R30801	R30803	533,36	I	OH	Phe	476	0,70	0,03	8
Coelenterazine ip									
R47120	R47122	389,45	I	OH	2P	441	0,54	47	1
Coelenterazine n									
398192	398194	457,52	Naph	OH	Phe	467	0,26 / 0,25	0,01 / 0,15	5 s / 6-30ms
Coelenterazine 2-methyl									
T88890	T88892	331,37				N/A	N/A	N/A	N/A
Coelenterazine 400a									
BB8391		391,46				~400	N/A	N/A	N/A
Methoxy e-Coelenterazine									
1J438		463,54				~405			
Sampler kit									
42176A	Contenu : 25 µg de chacun des 9 analogues de coelenterazine : Coelenterazine native, coelenterazine cp, coelenterazine f, coelenterazine fcp, coelenterazine h, coelenterazine hcp, coelenterazine i, coelenterazine ip et coelenterazine n.								

• Autres quantités sur demande (250 µg dans la gamme FluoProbes range ; 5-100 mg et bulk)

Demandez aussi nos coelenterazines micropesées (ex : Coelenterazine h Réf. **UPR30783**, 2 x 0,5 mg), stériles pour injection (ex : Coelenterazine h Réf. **BV0681**)



Tests rapporteurs de la Luciférase

Les kits FluoProbes de détection de la luciférase pour l'étude des régulation et fonction des gènes (tests rapporteur) opèrent par bioluminescence en microplaques 96- ou 384-puits. Ils sont optimisés pour remplacer avantageusement les kits concurrents.

• Firefly Luciferase 1-Step Assay

Ce kit est le plus simple, rapide et sensible.

- Reproductibilité : CV < 5%
- Gamme linéaire : > 7 ordres de magnitude
- Sensibilité de détection : 1 fg de luciférase par échantillon

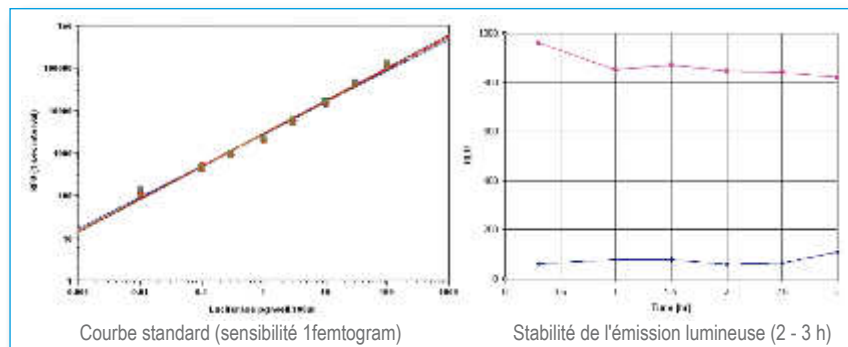
Le réactif Luciférase FluoProbes contient un additif spécial stabilisant l'émission, qui n'est pas un inhibiteur de l'enzyme luciférase comme dans certains autres kits. Il permet ainsi de mesurer l'activité luciférase avec un meilleur signal sur une gamme plus large. Ce kit est idéal pour les analyses en routine avec des durées d'incubation qui restent < 1 heure.

Produit	Réf.	Qté
Firefly Luciferase 1-Step Assay Kit Contient le tampon de test luciférase, plus du tampon de lyse*. Le kit de 100 ml permet de faire 1000 tests en microplaque de 96puits (ou 4000 tests en format 384 puits).	FP-BX0320	1 Kit 100 ml (1000 tests)
*Le tampon de lyse est disponible séparément (Réf. BE7941-99923, 15 ml 5X) pour les applications qui en requièrent plus que fourni dans le kit.	FP-BX0321	1 Kit 1000 ml

• Firefly Luciferase Reporter Gene Assay Kit, Bright Glow

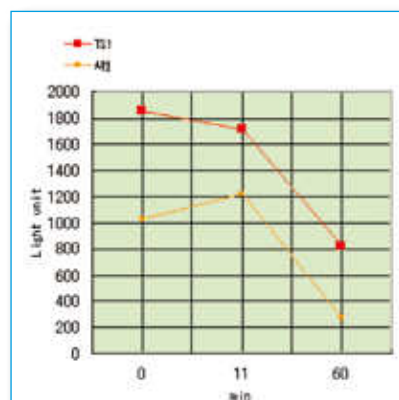
Ce test de bioluminescence rapide et simple en microplaques 96- ou 384 puits donne un excellent compromis entre intensité de signal et stabilité (demi-vie de 2 à 4 heures - "glowtype" -), pour des résultats fiables même sur des grandes séries de plaques. Le test est compatible avec l'utilisation de milieux de croissance cellulaire standards.

- Lecture jusqu'à 2 à 3 heures
- Excellentes sensibilité + linéarité + reproductibilité



Produit	Réf.	Qté
Luciférase Reporter Gene Assay Kit, Bright Glow Contient le composant A (Luciferase Sensor) et le composant B (Assay Buffer). Le kit de 10 ml permet de faire 100 tests en microplaque de 96puits (ou 400 tests en format 384 puits).	FP-JQ6810	1 Kit 10 ml (100 tests)
	FP-JQ6811	1 Kit 100 ml

Demandez aussi une version de kit à durée d'émission encore plus longue (3 à 5 heures), Réf. FP-BU6870, pour les applications à haut débit.



Comparaison de la sensibilité et de la cinétique entre le kit FluoProbes' 1-Step kit et un kit concurrent P. (données moyennes de déterminations en quadruplicate, CV < 5%)

Le kit est basé sur la luciférase de *Firefly*, enzyme de 61 KD qui catalyse l'oxydation en 2 étapes de la luciférase avec émission de lumière à 560 nm et un activation de la protéine par l'ATP.

Luciferin + ATP + O₂

↓ (Mg²⁺)

Oxyluciferin + AMP + Pyrophosphate + CO₂ + light (~ 560 nm)

La réaction possède le plus fort rendement lumineux des réactions bioluminescentes caractérisées, et permet d'atteindre une très grande sensibilité en raison de l'absence d'activé endogène dans les cellules mammaliennes

Facile d'emploi !

Préparer les cellules échantillon avec les composés à tester (100 µl par puits de microplaque 96-puits, ou 25 µl pour une microplaque de 384-puits)

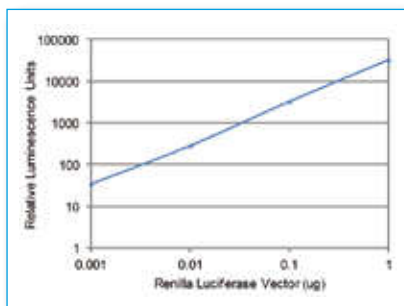
→ Ajouter un volume de réactif luciférase (A+B) égal à celui de l'échantillon

→ Incuber à température ambiante 10-20 min

→ Mesurer la luminescence



FluoProbes®



● Renilla Luciferase Assay Kit

Le kit réalise un test de bioluminescence rapide et simple en microplaques 96- ou 384-puits pour la luciférase de *Renilla*.

- Sensibilité maximale
- Linéarité de détection entre l'expression du gène luciférase et l'émission de lumière
- Pratique : substrat en fractions de 50 µg

Le signal est intense et de type flash – avec une demi-vie de 2 minutes –. La formulation est optimisée pour réduire au minimum l'autoluminescence (émission de lumière indépendante de l'oxydation), ce qui maximise la sensibilité.

Produit	Réf.	Qté
Renilla Luciferase Assay Kit	FP-BE7930	1 Kit (150 tests)
Contient la Coelenterazine native (lyophilisée), le tampon de test un tampon activateur, et le tampon de lyse, en quantité suffisante pour réaliser 150 tests en microplaque 96 puits.	FP-BE7931	1 Kit (1000 tests)

Procédure (manuelle) :

Préparer les cellules (échantillons). Préparer la solution mère de Coelenterazine avec le tampon de test, puis la solution de réactif test par dilution 1 : 50.

→ Ajouter 20 µl des échantillons de cellules avec 50 µl de réactif test et 50 µl de tampon activateur.

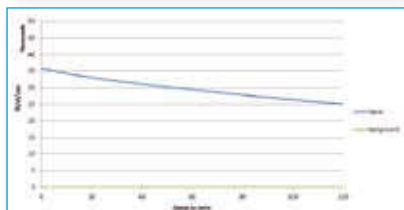
→ Mesurer la luminescence.

Procédure (par automate) :

→ Ajouter 20 µl des échantillons de cellules avec 50 µl de tampon activateur.

→ L'automate injecte 50 µl de solution de réactif test et mesure la luminescence.

La luciférase du copépode marin *Gaussia prince* est de plus en plus employé en test rapporteur car elle possède une activité bioluminescente supérieure aux luciférases de *Renilla* et *Firefly*, est sécrétée donc ne requiert pas forcément de lyse des cellules. En outre elle ne requiert pas d'ATP.



Cinétique du signal de détection de 1 ng de Gluc-M2 avec le kit FP-CM3751.

Séquence *Gaussia*-M2 à utiliser pour un signal Glow : KPTENNEDFNIVAVASNFAT-TDLADRGKLP GKLP LLEV LKLEANAR-KAGCTRGCLICLSHIKCTPKMKKFP-GRCHTYEGDKESAQQGIGEAIVDIPEIPGFKD-LEPLEQFIAQV D L C V D C T T G C L K G L A N V Q C S D L L K K W L P Q R C A T F A S K I Q G Q V D -KIKGAGGDGSLSTPPTSPSTPPTGLNDIFEAKQIEWHE

(Welsh et al., *Multiply mutated Gaussia luciferases provide prolonged and intense bioluminescence*, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 389 (2009) 563–568)

● *Gaussia* Luciferase Assay Kits

La formulation des réactifs des kits suivants permet de quantifier l'activité luciférase naturellement sécrétée dans le milieu de culture standard des cellules mammaliennes sous expression génique.

Les kits fonctionnent en microplates de 96- et 384-puits.

Le kit FP-BY7160 donne un signal supérieur mais moins durable, tandis que le kit FP-CM3751 est compatible aux requis HTS : des stabilisateurs rendent son signal stable 15 min (mesure standard à 10-15 min d'incubation) puis décline lentement (demi-vie de 30 min) en restant bien détectable pendant 1 heure ("glow-type", "Bright Glow", "Steady").

Ces kits peuvent aussi détecter la luciférase de *Renilla*.

Produit	Réf.	Qté
<i>Gaussia</i> Luciferase Reporter Gene Assay Kit	FP-BY7160	Kit 50 ml (1000 tests)
<i>Gaussia</i> Luciferase Reporter Gene Assay Kit, for HTS	FP-CM3751	Kit 50 ml (1000 tests)

Les 2 kits contiennent le substrat luciférase 100X, le tampon de test 1X, plus, pour le kit HTS seulement, un tampon stabilisateur.

● Autres kits de test rapporteur Luciferase disponibles

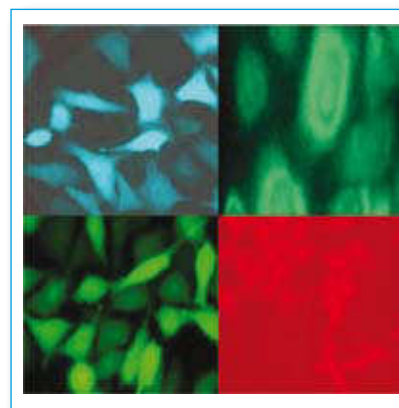
Produit	Réf.	Qté
Firefly Luciferase Assay Kit (Lyophilized buffer)	FP-1F817E	Kit 150 tests
Le kit (150 tests) contient Firefly Luciferase Lysis Buffer 5X (15 ml) Firefly Luciferase Assay Buffer (Lyophilisé, qsp 15 ml) et D-Luciferin (3 x 1 mg).	FP-1F8170	Kit 1000 tests
Steady Luciferase HTS Firefly Assay Kit	FP-BU6870	Kit 100 tests
Signal stable 3-5 h, compatible avec les analyses à haut débit (HTS). Le kit (100 tests) contient Firefly Luciferase Assay Buffer (10 ml) et D-Luciferin (2,5 mg).	FP-BU6871	Kit 1000 tests
Firefly and Renilla Luciferase Assay Kit (Dual)	FP-BE7810	Kit 100 tests
Détecte les 2 gènes rapporteurs Firefly Luciferase et Renilla Luciferase. Le kit (100 tests) contient D-Luciferin (2,1 mg), Coelenterazine 100X, Passive lysis Buffer 5X (10 ml), Firefly Luciferase Assay Buffer (15 ml), Renilla Luciferase Assay Buffer (10 ml) et Renilla Luciferase assay Enhancer (10 ml).	FP-BE7811	Kit 1000 tests

Pensez à demander nos vecteurs d'expression des luciférases !

Substrats de la β -Galactosidase

Substrats Fluorescents

Produit	Réf.	Qté
CUG - Light Blue (330/448) Carboxyumbelliferyl- β -D-Galactopyranoside ; CAS : 64664-99-9 ; PM : 368,3 ; (M)	FP-M1171A	10 mg
MU-Gal - Blue (360/449) 4-Methylumbelliferyl- β -D-Galactopyranoside ; CAS : 6160-78-7 ; PM : 338,32 (M)	FP-248742	5 x 1 g
TFMU-Gal - Aqua (385/501) 4-Trifluoromethylumbelliferyl- β -D-Galactopyranoside ; CAS : 117153-55-6 ; MW : 393,3 ; (M)	FP-M1141A	25 mg
FM-Gal - Green (490/514) Fluorescein mono- β -D-Galactopyranoside ; CAS : 102286-67-9 ; MW : 494,46 ; (M)	FP-524771	5 mg
FD-Gal - Green (490/514) Fluorescein di- β -D-Galactopyranoside ; CAS : 17817-20-8 ; MW : 656,60 ; (M)	FP-52476A	5 mg
DCF DG - Green (492/520) Fluorescein di- β -D-Galactopyranoside ; MW : 725,490 ; (M)	FP-DW1650	5 mg
Res-Gal - Red (571/585) Resorufin- β -D-Galactopyranoside ; CAS : 95079-19-9 ; PM : 375,34 ; (M)	FP-52473A	5 x 10 mg
DDAO-Gal - Orange (645 / 660 nm) 9H-1,3-Dichloro-9,9-dimethylacridin-2-one-7-yl) β -D-galactopyranoside ; CAS : 503178-95-8 ; MW : 470,3 ; (M)	FP-M1369A	5 mg
CUG-BSA conjugate - Light Blue (330/448)	FP-BM8390	10 mg
β -Galactosidase Sampler Kit contient les substrats et leurs références suivants : FDG (52476A - 5 mg), Fluorescein (193659 - 10 mg), Res-Gal (524739 - 10 mg), Resorufin (954329 - 10 mg), TFMU-Gal (M11419 - 10 mg), TFMU (43476I - 10 mg), CUG (M11719 - 10 mg)	FP-BM8400	1 kit



Substrats Chromogènes

Produit	Réf.	Qté
x-Gal - Indigo 5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl- β -D-Galactopyranoside ; CAS : 7240-90-6 ; MW : 408,62	UP40534M	1 g
	UP40534Q	10 g
Green- β -D-Gal - green CAS: 207598-26-3 ; PM: 309,3 ; (M)	AM338A	25 mg
Rose- β -D-Gal - pink (~540 nm) CAS:138182-21-5 ; PM : 329,74 ; (M)	AM341A	100 mg
Red- β -D-Gal - red/magenta (~565 nm) CAS:6769-80-8 ; PM : 408,6 ; (M)	A27020	100 mg
Purple- β -D-Gal - purple (~575 nm) CAS:36473-36-6 ; PM:421,19 ; (M)	AM339A	25 mg
oNPG - Yellow (410nm) CAS:2872-72-2 ; PM : 424,41 (M). Utile en ELISA	UP556683	5 g

Kits pour tests rapporteur

Produit	Réf.	Qté
Amplite™ Colorimetric Beta-Galactosidase Assay Kit Ration Abs. 580/Abs. 460 nm.	12604	1 kit 200 tests
Amplite™ Fluorimetric Beta-Galactosidase Assay Kit - Green Fluorescence Ex/Em = 490/515 nm.	12601	1 kit 500 tests
Amplite™ Fluorimetric Beta-Galactosidase Assay Kit - Red Fluorescence Ex/Em = 540/590 nm.	12603	1 kit 200 tests

Ces kits contiennent le substrat de la β -Galactosidase, le tampon de réaction, le tampon de Stop, le tampon de Lyse, DMSO et un réducteur.

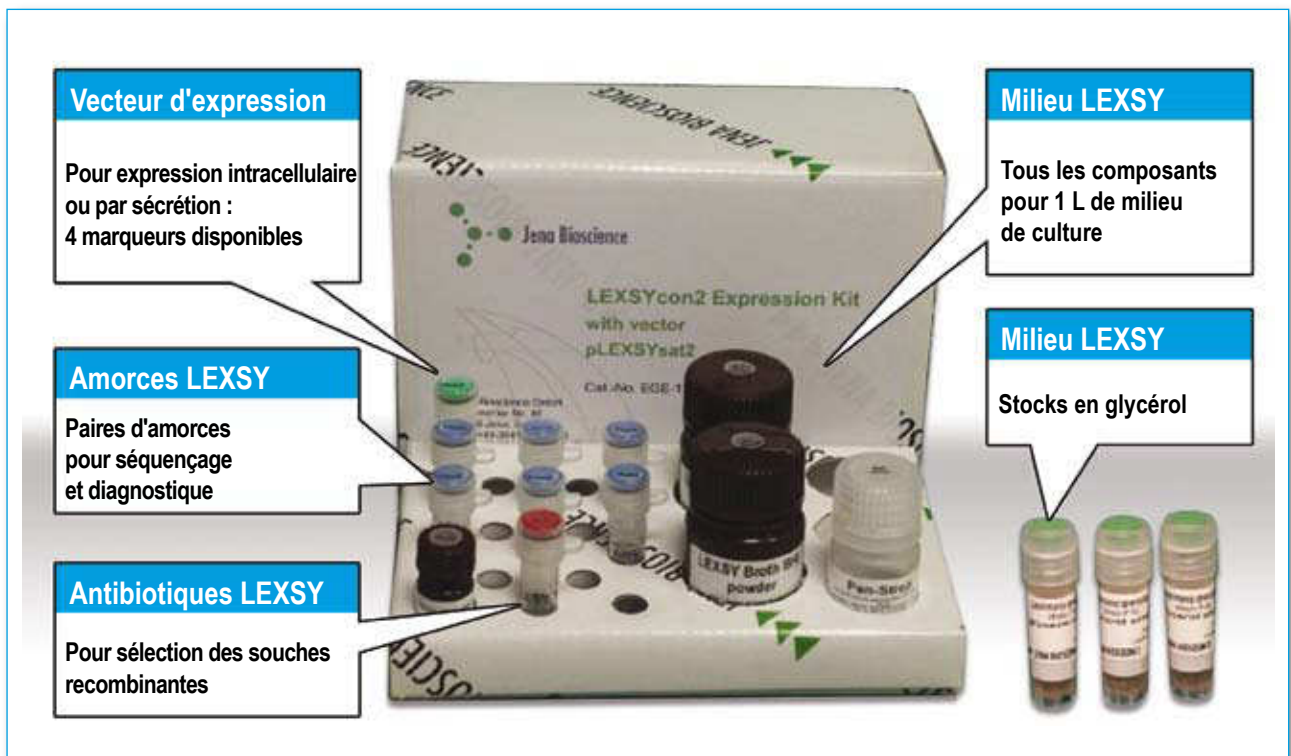
Produit lié		
Produit	Réf.	Qté
IPTG CAS : 367-93-1 ; PM : 238,30 ; (L)	UP84853C	1 g
Induit le gène lacZ des systèmes d'expression β -Galactosidase.		



Production de protéines pLEXY-2, Système de Expression & Production des Protéines eukaryotes

Le protozoaire kinetoplast unicellulaire *Leishmania tarentolae*, isolé de la tarentule *Moorish gecko mauritanica*, non pathogène pour les mammifères (niveau de biosécurité 1) – est utilisé comme hôte de production de protéines dans le système d'expression de protéines eucaryote LEXSY :

- **Hôte eucaryotique aussi facile à manipuler qu'*E. Coli*** : Pas de besoin d'équipement de laboratoire ou de biologie cellulaire spécifique
- **Machinerie d'expression de protéines totalement eucaryotique** avec modifications post-translationnelles, incluant glycosylation et formation des ponts disulfure
- **Vecteurs de transport** : clonage chez *E. coli*, expression dans l'hôte LEXSY
- **Expression intracellulaire ou sécrétée** des protéines ciblées
- **Expression stable** pour une production constante de protéines





Kits d'expression LEXSY

- Le kit **LEXSY intégré** est la base qui assure une production efficace d'une grande variété de protéines. La cassette d'expression, intégrée dans le chromosome, est disponible avec 4 marqueurs de sélection (LEXSY bleo, LEXSY neo, LEXSY Hygro, LEXSY Sat=Nourseothricin). Le kit/vecteur pLEXSY-sat2 est recommandé (expression constitutive ; sélection avec l'antibiotique Nourseothricin).
- Le kit **LEXSY** assure un contrôle strict de l'expression protéique analogue à la très connue architecture répressive bactérienne T7 RNA polymerase/TET repressor architecture. L'expression est lancée par addition d'un agent inducteur (tétracycline) et donc réduit les risques de toxicité d'une protéine exprimée. De plus, il a été montré pour un grand nombre de protéines intra cellulaires que l'expression induite a des rendements 5-10 fois supérieurs à l'expression constitutive. La visualisation est assurée par les antibiotiques LEXSY Neo ou LEXSY Bleo. Les vecteurs d'expression contenant ces 2 marqueurs alternatifs peuvent être introduits dans la même cellule pour la co expression de 2 protéines. Le kit/vecteur pLEXSY_I-blecherry3 est recommandé (tracage par fluorescence Cherry, et sélection par l'antibiotique LEXSY Bleo).
- Le kit **LEXSY episomal inducible** se sert de l'amplification et de l'oligomérisation de l'expression des plasmides maintenus hors des chromosomes comme d'épisomes d'auto réplication dans les cellules hôtes LEXSY. Le résultat est un plus grand nombre de copies des gènes disponibles pour la transcription par la T7 RNA polymerase.

Demandez à interbiotech@interchim.com les réactifs complémentaires pour la culture LEXSY :

- **LEXSY Strains & Cultivation Kits** : L'hôte d'expression LEXSY, en tant que marqueur ou que kits de culture prêt à pousser.
- **LEXSY Media, Plating, Antibiotics, Additives** : Toute le nécessaire pour la culture ou le maintien de souches.

• Kits LEXSY d'expression constitutive

Produit	Kit		Vecteur	
	Réf.	Qté	Réf.	Qté
LEXSYcon2 Expression				
Avec le vecteur intégratif pLEXSY-sat2	EGE-1300sat	1 Kit	EGE-234	5 µg
Avec le vecteur intégratif pLEXSY-ble2	EGE-1300ble	1 Kit	EGE-231	5 µg
Avec le vecteur intégratif pLEXSY-hyg2	EGE-1300hyg	1 Kit	EGE-233	5 µg
Avec le vecteur intégratif pLEXSY-neo2	EGE-1300neo	1 Kit	EGE-232	5 µg

• Kits LEXSY d'expression inducible de protéines cytosoliques secrétées

Produit	Kit		Vecteur	
	Réf.	Qté	Réf.	Qté
LEXSInduce3 Expression Kit				
Avec le vecteur intégratif pLEXSY_I-blecherry3	EGE-1410blecherry	1 Kit	EGE-243	5 µg
Avec le vecteur intégratif pLEXSY_I-ble3	EGE-1410ble	1 Kit	EGE-244	5 µg
Avec le vecteur intégratif pLEXSY_I-neo3	EGE-1410neo	1 Kit	EGE-245	5 µg

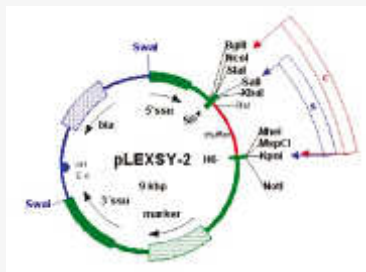
• Kits LEXSY d'expression inducible de protéines de fusion avec suivi par fluorescence EGFP, DsRed ou Cherry

Produit	Kit		Vecteur	
	Réf.	Qté	Réf.	Qté
LEXSInduce4 Expression Kit				
Avec le vecteur episomique pLEXSY_IE-blecherry4	EGE-1420blecherry	1 Kit	EGE-255	5 µg
Avec le vecteur episomique pLEXSY_IE-egfp-red-neo4	EGE-1420neo	1 Kit	EGE-249	5 µg





Technical Tip



plasmides pLEXSY-2 :

Réalisez des clonages efficaces avec un seul vecteur pour l'expression de protéines dans le cytosol ou secrétées !

- Combine des vecteurs constitutifs **cytosolique et sécrétoire**
- Combine les avantages des systèmes bactériens et mammaliens (**pousse rapide, machinerie de conformation protéique totalement eucaryotique**)
- Présente des **sites de restrictions** accessibles pour le clonage
- Permet la fusion avec un tag C-terminal
- Disponible avec 4 marqueurs de sélection différents
- Clonage en 3' : sites *Nhe I*, *MspC I* (*Afl II*) ou *Kpn I* encadré par un fragment His₆ (H6), pour une purification IMAC
- Clonage en 5' : *Bgl II*, *Nco I* ou *Sla I* (*Xho I*) site pour une expression cytosolique and get cytosolic expression
- Clonage en 5' : *Sal I* ou *Xba I*, encadré par un peptide signal (SP) pour une expression sécrétoire signal peptide (SP)

LEXSY, système de traduction *in-vitro*

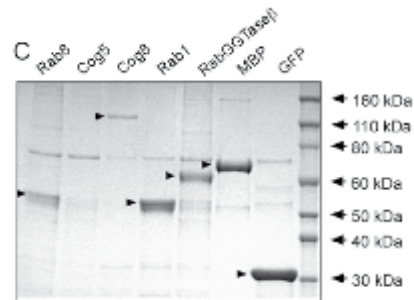
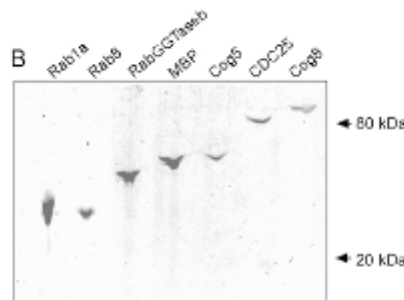
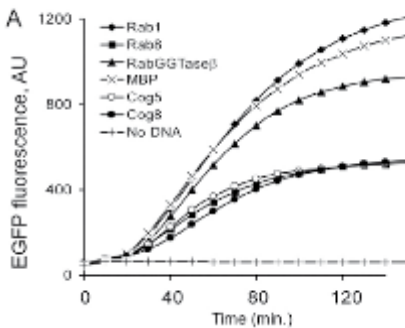
- Production de protéines *in vitro*, à partir d'ADN obtenu par clonage (haut rendement) ou par PCR (applications à haut débit)
- Tous les composants sont fournis pour une traduction complète et un bon repliement des protéines
- Bruit de fond très réduit par l'usage d'oligonucléotides anti-sens

Le système de translation *In Vitro* LEXSY est un outil rapide, efficace, flexible et peu onéreux pour les productions sans cellules de protéines recombinantes destinées aux analyses biochimiques, biophysique et structurales.

L'extrait cellulaire LEXSY destiné aux translations *in vitro* contient des ribosomes fonctionnels et tous les éléments essentiels aux translations eucaryotiques et à la machinerie de repliement protéique. Pour la formation du mRNA cible, la polymérase hétérologue T7 RNA est ajoutée aux extraits. Pour garantir un faible bruit de fond, la traduction du mRNA hôte endogène est bloquée efficacement par un oligonucléotide anti sens qui se sert de l'organisation unique de *Leishmania*.

L'ADN modèle peut être généré par clonage dans un plasmide ou par amplification PCR. Le plasmide de base permet de hauts rendements de traduction *in vitro* alors que la version PCR est destinée aux applications de hauts débits.

Produit	Réf.	Qté
LEXSY <i>in vitro</i> Translation Kit		
for plasmid based cell-free protein synthesis	EGE-2002-15	15 réactions
for PCR based cell-free protein synthesis	EGE-2010-15	15 réactions
LEXSY <i>in vitro</i> Translation Cell Extract		
for cell-free protein synthesis	EGE-260	15 réactions (250 µl)

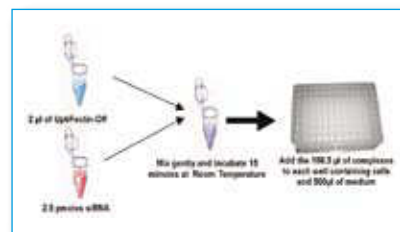


Traduction *in vitro* de produits de PCR (PloS One Vol. 5,12 (2010))



Transfection/Silencing

Les agents de transfection sont des outils essentiels pour l'étude de l'expression des protéines. Ces réactifs sont décrits au chapitre "Genomique/Biologie moléculaire"/Clonage/Réactifs de transfection. Le réactif UptiFectin-OFF est particulièrement adapté et efficace pour les techniques qui abolissent l'expression de protéines particulières au moyen d'un siRNA qui leur est spécifique (silencing).



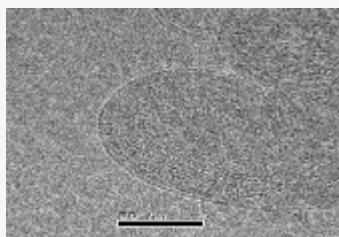
UptiFectin-OFF siRNA Transfection Reagent

- Efficacité supérieure de production de siRNA dans de nombreuses variétés cellulaires
- Fonctionne également avec du sérum
- Absence de toxicité aux concentrations de travail
- L'élimination des complexes de transfection n'est pas nécessaire
- Particulièrement destiné aux transfections primaires et des cellules souches
- Réduit au silence plus de 95% de l'expression du gène ciblé

L'**UptiFectin-OFF** est un dérivé synthétique d'une molécule naturelle créant des liposomes en solution. Ce composé est très efficace pour la formation de siRNA dans un grand nombre de cellules.

Produit	Réf.	Qté
UptiFectin-OFF siRNA transfection reagent	DW903	250 tests

Technical Tip

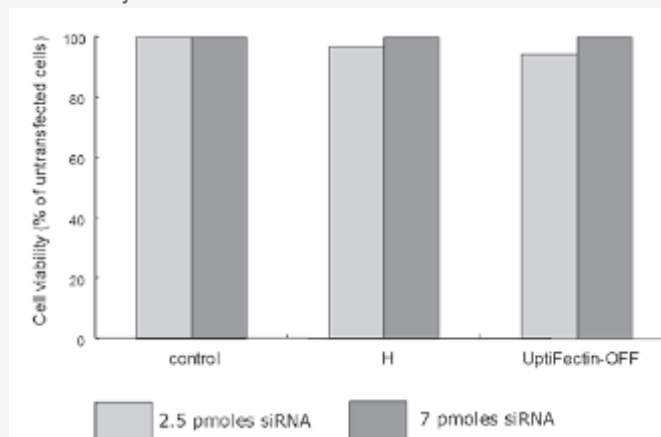


Le siRNA forme un complexe multi couche avec l'UptiFectin-OFF. Cette multi-couche protège les siRNA des activités enzymatiques. Ainsi la quantité de DNA transfecté est supérieure à celles obtenues avec des réactifs classiques.

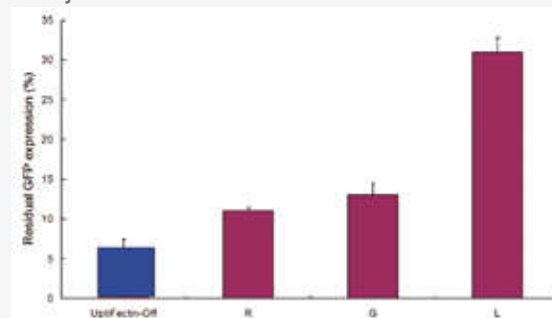
Protocole simple

Un protocole décrit les étapes de transfection des cellules adhérentes et en suspension et également les lignes directrices pour l'optimisation (changements d'échelle, densité cellulaire...). Les cellules adhérentes sont également transfectées par les procédures de transfections reverse que par les transfections normales

Absence de cytotoxicité - Pas d'effets hors cibles notoirs



Activity:

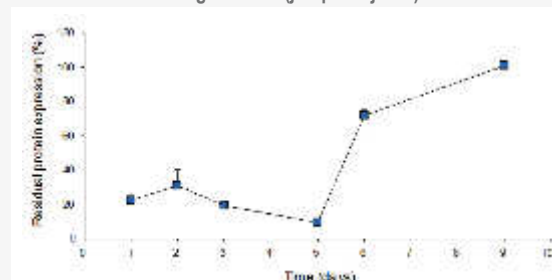


Etude de comparaison de l'efficacité de l'UptiFectinOFF avec des produits concurrents :

37.5 ng/puit de siRNA ciblant le GFP a été formulé avec l'UptiFectin-OFF ou les produits concurrents. L'efficacité de la mise sous silence du GFP a également été quantifiée par le dosage de la mRNA de la GFP en RT-PCR dans les cellules transfectées. Les résultats montrent que les cellules transfectées n'ont que 4,1% de GFP-mRNA comparé aux cellules transfectées avec siRNA contrôle (données non montrées).

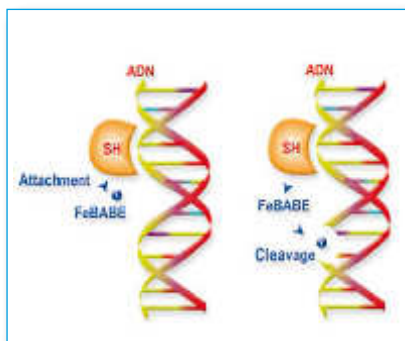
Des expérimentations similaires ont été menées avec des siRNA ciblant la Lamine A/C endogène.

Effet de silence de longue durée (jusqu'à 5 jours)





FluoProbes® Uptima



Intéractions de protéines

Ciseaux moléculaires FeBABE

Un outil unique pour étudier les structures tridimensionnelles !

Produit	Réf.	Qté
FeBABE β-BromoAcetamidoBenzyl-EDTA Iron (III) chelate ; MW : 589,17 ; (M)	UP994760	1 mg

- Fixe les résidus Cys-SH puis clive les peptides et chaînes DNA à proximité (jusqu'à 12 Angstrom)
- Réaction rapide

Le groupe Bromoacétamide réagit spécifiquement avec les sulfhydryles libres, introduisant un chélate de fer. Le chélate clive les liaisons DNA et protéines présentes dans le voisinage en 10 sec. à 20 min en présence d'acide ascorbique et d' H_2O_2 .

Applications :

Révélation de 3 structures dimensionnelles (*E. Coli* cytochrome bd quinol oxidase, une sous unité de *E. Coli* polymérase...).

Utilisée aussi comme nuclease chimique.

Références : Rana (1991), Ghaim (1995), Murakami (1995), Miyake (1998), Owens (1998), Deriemer (1981)

Voir d'autres réactifs pour l'étude de la structure des protéines et les ligands qu'elle peut complexer au [chapitre "Biochimie/Crosslinkers"](#) : crosslinkers photoréactifs, et pour tests pull-down avec transfert de marquage.

Produit lié

Produit	Réf.
Agents réducteurs DTT	UP28425
TCEP	UP242214

Substrats BRET

Les tests rapporteurs permettent d'étudier les interactions entre protéines par BRET (Bioluminescence Resonance Energy Transfert). Ils utilisent alors comme substrats :

- Coelenterazine H (UPR30783) : transfert l'énergie aux accepteurs YFP.
- Coelenterazine 400 a (UPBB8392), le substrat de *Renilla* luciférase génère un pic d'émission centré aux alentours de 400 nm. C'est le substrat préféré de l'enzyme Rluc substrate pour les études en BRET² avec l'accepteur GFP
- Methoxy-e-Coelenterazine (Me-O-e-CTZ), le substrat de *Renilla* luciférase génère un pic d'émission centré aux alentours de 405 nm

Voir la description des Coelenterazines ci-dessus, à la section "Tests rapporteurs".



LanPower™: anticorps pour détection d'interactions par TR-FRET

La plupart des standards de fluorescences émettent de la lumière quelques nanosecondes après avoir été excités. L'Europium, un lanthanide, a une durée d'émission longue (mesure en millisecondes) après excitation ce qui garantit un plus faible bruit de fond de fluorescence.

Le dosage LanPower™ utilise un anticorps marqué avec un chélate d'Europium (Eu) comme donneur de fluorescence et le GS665 comme accepteur de fluorescence. L'énergie de transfert se fait quand donneurs et accepteurs sont très proches ce qui résulte en une émission de lumière à partir de l'accepteur à une longueur d'onde donnée. La quantité de lumière émise est proportionnelle aux interactions donneur/accepteur. Les interactions et proximités biomolécule/biomolécule peuvent ainsi être étudiées en couplant les 2 biomolécules avec une sonde fluorescente et détection des énergies de transfert.

- **Spécificité : utilisation des anticorps ELITE.** Ces anticorps ont les spécificité et affinité les plus élevées contre leurs antigènes.
- **Sécurité :** pas de fluorure de potassium (KF) et utilisable en solutions protéiques contenant des ions Ca²⁺

Produit	Réf.	Qté
LanPower 6×His Tag Antibody [Eu]	A01812-10	10 µg
LanPower GST Tag Antibody [Eu]	A01813-10	10 µg
LanPower DYKDDDDK Tag Antibody [Eu]	A01814-10	10 µg
LanPower 6×His Tag Antibody [GS665]	A01815-100	100 µg
LanPower GST Tag Antibody [GS665]	A01816-100	100 µg
LanPower HA Tag Antibody [Eu]	A01820-10	10 µg
LanPower c-Myc Tag Antibody [Eu]	A01821-10	10 µg
LanPower MBP Tag Antibody [Eu]	A01822-10	10 µg
LanPower Streptavidin [Eu]	A01823-100	100 µg
LanPower Streptavidin [GS665]	A01824-100	100 µg