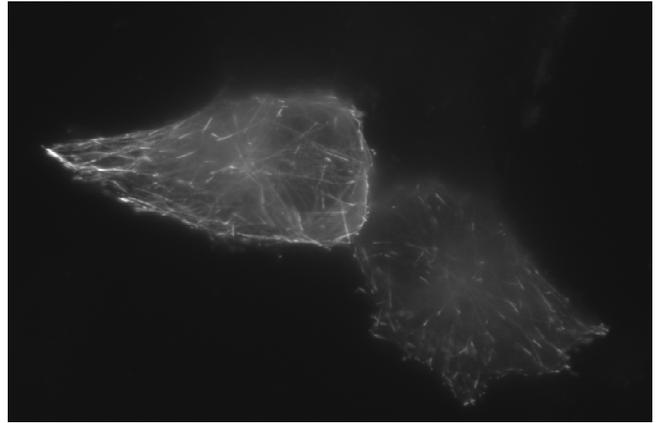


Essais de cassage de cellules Hela pour la récupération de microtubuline

Désintégrateur de cellules : OSM de Constant System LTD (CellID)
Pression de cassage : 300 et 500 bars

Expériences réalisées par Magda Magiera
Janke Groupe - Dept. "Signalling, Neurobiology and Cancer"
CNRS UMR 3306 / INSERM U1005
Institut Curie



But :

Le but est de casser des cellules Hela pour récupérer les microtubules solubilisée dans le surnageant. Le cassage par sonication n'était pas adapté car même après ultracentrifugation une grosse couche de "graisse" gêne la récupération d'un surnageant limpide et riche en microtubules solubilisés.

Dominique Ghozlan (CellID) m'a proposé de travailler entre 300 et 900 bars avec un broyeur cellulaire Constant Systems à froid et sans détergent, de façon à casser les cellules en gros fragments pour qu'il puisse être culotés sans avoir une émulsion protéine lipide membranaire qui est gênante, pour la récupération des microtubules.

Expérience et résultats

« J'ai fait des essais de cassage de cellules Hela sur le broyeur OSM de CSL. Pour chaque essai je traitais 3ml de cellules dans un tampon sans détergent.

J'ai fait un test à 300 et à 500bars. Dans les deux conditions après un passage il restait un petit pourcentage de cellules entières. Après deux passages à 300bars, tout comme après deux passages à 500bars toutes les cellules étaient cassées, j'ai donc décidé de les casser en faisant passer deux fois à 300bars (en me disant que l'effet semblait pareil qu'à 500bars et que je voulais rester le plus bas possible avec la pression). J'ai ensuite centrifugé l'extrait à 45000rpm (app 100000g) et l'extrait était presque parfait (une toute petite couche de gras). La manipulation ultérieure a très bien fonctionné, donc en conclusion nous sommes très contents avec votre machine ! »

Magada Magiera