

# M5 Yeast Protein Extraction Kit

## 使用说明书

| 产品名称                            | 单位  | 货号       |
|---------------------------------|-----|----------|
| M5 Yeast Protein Extraction Kit | 50T | MF187-02 |

### 【STORAGE】

常温下运输，收到后，将等渗液和低渗液在 4°C 保存，蜗牛酶和 PMSF 在 -20°C 的冰箱中保存，保质期两年。

### 【产品简介】

酵母蛋白提取试剂盒采用 EDTA，山梨醇和蜗牛酶，蛋白酶抑制剂，蜗牛酶在合适的等渗体系中消化酵母的细胞壁，在用等渗液冲洗后，用含有蛋白酶抑制剂和温和去污剂的低渗缓冲液进行反复冻溶，促进细胞破裂，从而释放蛋白质，可以应用酵母蛋白和重组胞内蛋白的活性分析，western blot、SDS-PAGE、2D 和免疫共沉淀等蛋白质电泳以及免疫学实验，每次可以处理 50mg 的湿重酵母，可以使用 50 次。

如果酵母蛋白提取后续实验为 SDS-PAGE 等变性蛋白电泳及免疫学实验，亦可通过裂解液（组分 II）处理后加入 SDS-PAGE 上样缓冲液直接制备蛋白样品。

### 【产品组份 I】

|      | 50T     |
|------|---------|
| 等渗液  | 75 mL   |
| 低渗液  | 25 mL   |
| 蜗牛酶  | 0.25 mL |
| PMSF | 0.25 mL |

### 【产品组份 II】

|             | 50T    |
|-------------|--------|
| 裂解液         | 10 mL  |
| 中和液         | 0.4 mL |
| 5xSDS 上样缓冲液 | 1 mL   |

### 【注意事项】

1. 按照每 50 mg 湿重加 500 $\mu$ L 的等渗液和 5 $\mu$ L 的蜗牛酶，菌体的量不能够过多，否则会使的菌体裂解不充分。
2. 裂解后的酵母菌蛋白液，应在 -20°C 的冰箱中保存。
3. 在跑电泳时，由于蜗牛酶已经被冲洗，所以可能产生与蜗牛酶相关的几个条带，一般不会产生。
4. 溶液使用后，请旋紧瓶盖，防止溶液挥发和与空气的物质发生化学反应。

### 【操作步骤 I】

1. 将酵母在 28-30°C 的环境中培养到 OD<sub>600</sub>=1.0 左右。8000 rpm (5000g) 离心 1 min，收集菌体并称量菌体的湿重。
2. 以每 50mg 湿重加 500 $\mu$ L 等渗液，5  $\mu$ L 蜗牛酶和 1  $\mu$ L 的巯基乙醇，枪头吹吸或者涡旋震荡，将菌体悬浮。

3. 30°C水浴 60 min, 5000 rpm(2500g) 离心 1min, 去上清, 收集沉淀。
4. 用 500 $\mu$ L 等渗液重悬, 再 5000 rpm(2500g) 离心 1 min, 去上清, 收集沉淀, 重复洗涤一次。
5. 加入 500 $\mu$ L 低渗液(使用前, 在 500 $\mu$ L 低渗液中加入 5  $\mu$ L PMSF)重悬, 再放入-20°C冰箱中冷冻 30 min, 室温溶解。再放入-20°C冰箱中冷冻 30 min, 室温溶解。
6. 裂解后的溶液 12000 rpm (12830g) 离心 5 min 后, 取上清可以用于实验。

### 【操作步骤 II】

1. 将酵母在 28-30°C的环境中培养到 OD<sub>600</sub>=1.0 左右, 取 2-5 ml 培养物, 8000 rpm (5000g) 离心 1 min, 收集菌体, 尽量将培养基上清去除干净。
2. 加入 200  $\mu$ L 裂解液和 4  $\mu$ L 的巯基乙醇, 枪头轻轻吹吸将菌体悬浮。
3. 放入金属浴, 96 加热 10 min.
4. 加入 5  $\mu$ L 中和液, 震荡混匀。
5. 12000 rpm 离心 5 min 后取 20  $\mu$ L 上清加入 5  $\mu$ L 5xSDS 上样缓冲液混匀, 即可用于蛋白电泳 (可根据情况梯度上样确定最佳上样体积, 如 3  $\mu$ L, 6  $\mu$ L, 9  $\mu$ L )



### 【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。