

Minute™ 凝胶中蛋白/核酸提取试剂盒

目录号 PN-019

描述：

被动洗脱和电洗脱是从聚丙烯酰胺/琼脂糖凝胶中提取蛋白质或核酸的常用方法。被动洗脱通常需要过夜孵育，洗脱的蛋白浓度非常低，需要进一步浓缩。电洗脱（30-120 分钟）比被动洗脱快但是需要特殊的电洗脱仪，对于分子量较大的 (>70KD) 蛋白无法高效提取，电洗脱液中通常含有表面活性剂和其他化学物质会影响下游应用。我们的试剂盒可以快速的从凝胶中提取蛋白/核酸，无需特殊仪器，操作时间<10 分钟。根据凝胶染色的方法，洗脱缓冲液可以是含有表面活性剂的缓冲液或纯净水。洗脱体积在 10-200ul。多个凝胶片段可以在一个单管中进行处理，可获得高浓度蛋白。

应用：

可应用于 MALD-MS 分析，免疫动物，蛋白质相互作用和蛋白质-核酸相互作用研究等。核酸可用于 PCR 反应，克隆和测序等。

试剂盒组分

1. 20 个离心管柱及 2.0ml 收集管
2. 20 个微型离心管 (200ul)
3. 2g 提取粉
4. 4 根微型杵

储存：

室温储存

所需附加材料

台式离心机

操作方法：

A. 从聚丙烯酰胺凝胶中提取蛋白质

1. 蛋白样品通过 SDS-PAGE 或 2D 分离后，凝胶可以通过正染色法如标准的考马斯亮蓝染色或者负染色法（见下面参考文献）将凝胶去染色显示目标蛋白条带。如果凝胶用考马斯亮蓝染色，需确保凝胶仅简单染色（使用最短时间显示目标条带，通常不超过 5 分钟），并且需要用双蒸水至少冲洗 3 次。
2. 用刀片从胶中切出感兴趣的条带，并修剪掉过多的凝胶。用滤纸去除凝胶中多余的液体。将 1-2 个凝胶切片放入提供的 200ul 管底（该管可以容纳多个凝胶切片）
3. 用微型杵平端添加适量提取粉（约凝胶体积的 1/4-1/3）到管底。根据需要添加洗脱缓冲液（见下文）到同一管中（20ul/胶片）。将微型杵尖端插入管底反复扭转减小凝胶体积使其匀浆。你也可以用微型杵反复挤压凝胶使其匀浆（大约需要 1-2 分钟，微型杵是可重复使用，简单地用蒸馏水冲洗，用纸巾擦干）。继续加入按照 20-50ul/切片洗脱缓冲液到管中，确保洗脱缓冲液可以没过凝胶匀浆。盖上管子，在 PCR 仪中，94℃ 孵育 5-10 分钟。涡旋震荡几下，继续孵育 5-10 分钟。延长孵育时间会增加蛋白产量。也可以盖上盖子 4℃ 过夜孵育。
4. 打开 200ul 离心管和接收管管盖，用刀片或剪刀将盖子全部修剪掉，将离心管柱套入接收管后，将 200ul 离心管开口向下插入离心管柱套管中，离心机最高转速离心 2 分钟。弃掉离心管柱，保存接收管中洗脱的蛋白即可。

B. 琼脂糖凝胶中的核酸提取

1. 用刀片切出感兴趣的条带并修剪掉过多的凝胶。
2. 将切下的胶片放入提供的 200ul 管中。加入加适量提取粉（约凝胶体积的 1/4-1/3，见上面）到管底。
3. 用微型杵扭转研磨胶片减少体积使其匀浆如上述。用刀片或剪刀将 200ul 离心管和接收管盖子

全部修剪掉。将 200ul 离心管开口向下插入离心管柱套管中，离心机最高转速离心 1 分钟。弃掉离心管柱，保存接收管中洗脱的核酸即可。

洗脱缓冲液的选择

洗脱缓冲液的选择取决于凝胶染色的方法以及下游的应用。如果染液中含有固定剂，如甲醇和乙酸。推荐使用含 0.1-0.5%SDS 或酸不稳定的表面活性剂的洗脱缓冲液。如果凝胶不染色或负染色，蛋白可以用双蒸水或含有甲酸/水/异丙醇洗脱缓冲液 (1:3:2 V/V/V)

负染色参考文献：

- 1 Cohen, S. L., and Chait, B. T., (1997) *Anal Biochem* **247**, 274-267
2. Ortiz.,M. L., et al., (1992) *FEBS Lett.* **296**, 300-304

更多信息和活动请扫描
二维码关注官方公众号

