

MinuteTM 酵母线粒体富集试剂盒

目录号:YM-017

描述:

酵母线粒体分离提取的传统操作方法是通过对亚细胞结构分离，通常经过样品制备，匀浆裂解，密度梯度高速离心等复杂而冗长的步骤。而我们的试剂盒可以使酵母线粒体快速而简单的富集，方法简单无需任何仪器，无需超速离心，在 1 小时内就可以从酵母中分离出天然线粒体蛋白，试剂盒中配有优化的无表面活性剂的缓冲液，蛋白得率可达 150-250ug/样品。

应用:

可应用于 SDS-PAGE, WB, IP, ELISA, 酶活性检测, 蛋白质组学及其他生化分析。

试剂盒组分(50T):

1. 30ml 缓冲液 A
2. 10ml 缓冲液 B
3. 5g 蛋白提取粉
4. 2 根 1.5ml 离心管研磨棒
5. 50 个 1.5ml 离心管

储存:

-20°C 储存

所需附加材料:

1XPBS

台式离心机(最大离心力 14,000-16,000Xg)

重要信息

在分离前建议在 Buffer A 中添加蛋白酶抑制剂。研究蛋白磷酸化，磷酸酶抑制剂应在使用前加入缓冲液 A 中。

(请按照蛋白酶或磷酸酶抑制剂母液比例，例如母液是 100x，添加时按照 1: 100 添加，1ml 缓冲液 A 添加 10ul 抑制剂)。推荐使用 BCA (Pierce) 试剂盒用于蛋白浓度测定。

操作步骤：

1. 用**试剂盒提供**的 1.5ml 离心收集对数生长期的酵母细胞 (*S. cerevisiae* or *S. pombe*)，确保收集细胞的湿体积在 30-40ul，细胞体积可以通过一个 1.5ml 离心管装入 30-40ul 水进行对比。
2. 加入 1ml 预冷的水重悬细胞，加入 100mg 蛋白提取粉到管中，涡旋震荡混匀，然后在最高转速下离心 2 分钟，弃掉上清液。
3. 用提供的研磨棒反复扭转研磨沉淀 2 分钟。加入 300ul Buffer A 到管中，继续研磨 30 秒。
(注意：研磨棒可重复使用，简单浸泡在洗涤剂中，用清水冲洗干净，用纸巾擦干即可)。
盖上盖子，大力涡旋震荡 10 秒。
4. 4°C，2,000Xg，离心 2 分钟。将上清液转移到新的预冷的离心管中，放置于冰上。重复步骤 3 一次，在冰上合并两次上清液 (600ul) 在离心管中。
5. 4°C，最高离心力下离心 20 分钟。将上清转移到新的离心管中**(此部分为酵母胞浆蛋白组分)**。沉淀中加入 200ul Buffer B，涡旋震荡重悬沉淀。在 4°C，6,000Xg，离心 5 分钟。
6. 将上清液转移到新的预冷的 1.5ml 离心管中 (实验室自备)，加入 1ml 预冷的 1XPBS 到管子中。翻转管子几次，4°C，16,000 Xg，离心 30 分钟。**沉淀部分为富集的酵母线粒体**。酵母线粒体可以根据下游实验应用选择含有不同表面活性剂的溶液来溶解。推荐使用下表中 Minute™ 系列溶解液溶解线粒体。做等电聚焦 (2D 凝胶第一维) 我们建议使用：7M 尿素 /2M 硫脲/2%Chaps 和 20mM DTT (使用前将 DTT 加入以上混合液中)。

应用提示：最终的蛋白质产量与步骤 3 中研磨频率和时间在成正比。应使用试剂盒中提供的研磨棒及 1.5ml 毫升离心管，更为匹配，效果更佳。

推荐按照下游实验应用选购以下蛋白溶解液溶解线粒体蛋白

产品名称	货号	下游实验应用
Minute™ 变性蛋白溶解液	WA-009	SDS-PAGE 电泳, WB, 胰酶消化, 用生物素标记或组氨酸标记纯化蛋白质等实验
Minute™ 非变性蛋白溶解液	WA-010	ELISA, IP, CO-IP, 酶活性检测等其他应用
Minute™ 质谱专用蛋白溶解液	WA-011	胰酶消化及后续的质谱分析

更多信息和活动请扫描
二维码关注官方公众号

