

Minute™ 无有机溶剂的乳脂去除试剂盒

目录号:ML-044

描述:

人/动物全乳中含有大量的脂类,在乳蛋白分析和纯化前需要去除。传统方法常用有机溶剂萃取法如 Folch 法,但由于氯仿具有毒性,因此不宜使用。许多有机溶剂可以有效地从乳中提取脂类,但也会沉淀蛋白质,再复溶蛋白时这些蛋白会变成不溶性蛋白。使用本试剂盒,乳蛋白在水相环境中沉淀,可以很容易地复溶于水相缓冲溶液中用于下游应用。本试剂盒可以将全乳分为三个组分:水溶性蛋白质组分、酪蛋白组分和脂质组分,且不使用有机溶剂。提取的脂质部分可直接使用或根据实验选择合适的有机溶剂重悬,干燥后用于下游脂质分析。试剂盒提供足够用于 100 个 100 μ l 样品处理的试剂,操作体系可根据研究者的需要放大或缩小。

应用:

试剂盒可以在不进行热处理的情况下去除全乳中大部分脂质,可用于蛋白质分析或蛋白质纯化。分离出的脂质组分也可用于进一步的分析,如脂源性研究。

试剂盒组分:

1. 缓冲液 A 10ml
2. 缓冲液 B 20ml

所需附加材料

1xPBS

离心管

台式离心机

运输储存:

常温运输,室温储存。

操作方法：

重要事项：使用前，用力摇匀缓冲液 B 几秒钟。

- 1.在离心管中加入全乳样品。如做预实验，我们推荐将 100 μ l 全乳添加到 1.5 ml 离心管中。
- 2.向离心管中加入等量 (100ul) 的缓冲液 A，吸头吹打 10-20 次混匀，在冰上孵育 10 分钟。
- 3.16,000Xg，**室温下**，离心 5 分钟。将上清液转移到新的离心管中。上清液中主要含有乳球蛋白和乳清蛋白 (**LA 部分**)。
4. 加入 100 μ l PBS 涡旋震荡重悬步骤 3 的沉淀。**用力摇匀缓冲液 B 约 10 秒钟**，然后立即加入 200 ul 缓冲液 B，大力旋涡混匀 20 秒，室温孵育 2-3 分钟。
5. 在**室温下**，16,000Xg 离心 5 分钟。离心后，**脂相** (上部) 和沉淀 (**酪蛋白部分**) 应清晰可见。
- 6.将水相和脂相倒入一个新的 1.5 ml 的离心管中。用镊子夹住小纸巾擦净管壁，去除管壁附着的油脂。沉淀主要含有酪蛋白和其他蛋白质，大部分脂质被去除。
- 7.沉淀可在水相缓冲液中重悬，例如 200 μ l PBS，酪蛋白很容易溶解。将离心管在 10,000 Xg 下离心 5 分钟，可以进一步去除残留的脂质，去除顶部的白色薄层脂质。如果有人对乳脂感兴趣，可使用有机溶剂 (例如己烷/异丙醇混合物萃取 (Anal Biochem 1978,90,420)) 进一步萃取分离的脂质进行下游分析。

注意：如果你正在研究全乳中蛋白质的表达，你需要在 LA 和酪蛋白两个组分中检测你的目标蛋白。

更多信息和活动请扫描
二维码关注官方公众号

