

Minute™ 突触体分离试剂盒

目录号：SY-052

描述：

从神经元组织/培养细胞中分离突触体对于理解神经系统疾病的机制至关重要。突触体中含有直径为 80-200nm 的突触小泡，这些突触小泡在信号传输中起重要作用。传统分离突触体是使用密度超高速离心方法，步骤相对繁琐和耗时，且起始样品量需求高。Minute™ 突触体分离试剂盒是一种简单、快速可从新鲜/冷冻的神经元组织/培养细胞中分离突触体的方法。本试剂盒不使用杜恩斯均浆器和超高速离心机，仅需约 10-50mg 起始样品，操作过程不到 1 小时即可完成突触体的分离。本试剂盒使用无表面活性剂的缓冲体系，可获得天然的突触体相关蛋白。

试剂盒组份(50T)：

- | | |
|--------------|------|
| 1. Buffer A | 25ml |
| 2. Buffer B | 3ml |
| 3. Buffer C | 25ml |
| 4. 塑料研磨棒 | 2 个 |
| 5. 离心管柱 | 50 个 |
| 6. 2ml 接收管套管 | 50 个 |

运输与储存： 常温运输 4 度储存

所需附加材料

1 X PBS

涡旋震荡仪

台式离心机(10s 内转速可达 16,000Xg)

重要产品信息

操作前务必仔细阅读整个操作说明。

1. 所有离心步骤都需要在 4-8°C 房间或者低温离心机中进行。
2. **研究蛋白磷酸化，磷酸酶抑制剂应在使用前加入 Buffer A 和 Buffer C 中。如果担心蛋白降解问题使用前可在 Buffer A 中添加蛋白酶抑制剂。**（请按照蛋白酶或磷酸酶抑制剂母液比例添加，例如母液是 100x，添加时按照 1: 100 添加，即 1ml 缓冲液中添加 10ul 抑制剂）。
3. 推荐使用 BCA 法测定蛋白浓度。

操作步骤：

1. 将离心管柱及接收管套管放置冰上预冷,在冰上预冷 buffer A 和 buffer C。
2. **脑组织样品**，将约 30mg 新鲜或冷冻组织（组织的量可在 10-50mg 范围）放置于离心管柱套管上。加入 200ul Buffer A，用塑料棒反复扭转按压研磨组织 1-2min。再加入 300 ul Buffer A 混匀，转接步骤 3。注意：塑料棒是重复使用的，可以用 70% 的酒精或者水清洗。
细胞样品，低速离心（500-600Xg，5min）收集 30-40x 10⁶ 个细胞。用 1ml 预冷的 PBS 清洗一次细胞，完全去除上清，加 500ul Buffer A 重悬细胞，**在冰上孵育 5min**，混匀后迅速将细胞悬液转入离心管柱套管中。转接步骤 3。
3. 盖上盖子，翻转几次，16,000X g，离心 15-20s。**（此步骤需离心机快速升速，10s 内到达 16,000Xg 可提高得率）（可选优化步骤：细胞样品过柱之后，可以再次重悬接收管中液体，转移回同个离心管柱中再次过柱，可以增加产量）**
4. 弃去离心管柱，大力涡旋震荡 10s 重悬沉淀，1,500X g，离心 5min，**沉淀包含细胞核，大的细胞碎片和一些未破碎的细胞**。小心地将上清转移到新的 1.5ml 离心管中，加入 50ul buffer B 振荡 20-30s 混匀后，13,000X g，离心 15min。完全去除上清 **（上清是胞浆组分）**。
5. 沉淀中加入 500ul 预冷的 Buffer C，用吸头反复吹打重悬沉淀。冰上孵育 5min 后，剧烈振荡

10-20s 混匀, 2,000xg, 离心 5min (**沉淀主要是质膜和一些脂质**)。小心的将上清转移至一个新的离心管中。

6. 13,000X g 离心 20min, **沉淀即是分离的突触体**。沉淀可根据下游应用选购以下溶解液重悬沉淀 (见下表格)。根据起始样品量和沉淀量使用 100-300ul 溶解液吹打溶解即可。

推荐按照下游实验应用选购以下蛋白溶解液溶解突触体

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

