



酵母细胞总蛋白提取试剂盒

目录号：ZD405

试剂盒内容：

试剂盒组成	ZD405-1 (50 次)
酵母细胞蛋白裂解液	50ml
酵母细胞漂洗液	120 ml
酵母细胞悬浮液	50ml
100×蛋白酶抑制剂	0.6ml
50% 甘油	10ml
说明书	1 份

储存条件：

本试剂在室温干燥条件下，可保存 6 个月。酵母细胞悬浮、100×蛋白酶抑制剂和 50% 甘油 2-8℃保存。

概述：

1、**总论**：经典的细胞蛋白质分离流程由下述主要步骤组成：清洗组织或细胞；裂解细胞；离心去沉淀获得可溶性蛋白质粗提物（可依据目标蛋白质的理化特性特别的调配裂解缓冲液），目的蛋白质是膜蛋白时用去垢剂处理；通过有机溶剂或盐析等沉淀离心、层析、电泳等方法进一步纯化，得到目的产物蛋白。

2、本试剂盒用于从酵母细胞中快速、高效而温和地抽提可溶性蛋白。采用本试剂处理，可以避免激烈的机械处理造成的氧化和热度升高对目的蛋白的破坏作用。使用方便，避免了重复性差的研磨法，超声波法或压榨法对酵母细胞的破坏。

注意事项：请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1) **酵母细胞悬浮液**含有高活性消解酶类，即使在30℃作用60 分钟即可获得满意的溶解。但在4℃保存下。存放时间久后，可能会出现酶活性下降，因此，当出现这种情况的时候，用户可以适当添加消解酶至10mg/ml。

2) 若目的蛋白不稳定，冰浴中孵育时间可以减少甚至取消，裂解液内加入0.2 倍体积50%甘油也可以稳定目的蛋白。

3) 4℃保存。

操作步骤：

1. 离心收集在选择压力下静止培养的酵母培养物的沉淀（一般而言，12,000rpm 离心30 秒钟，连续收集多次）酵母细胞，按照每克酵母湿菌取用3ml **酵母细胞悬浮液**的比例，于室温将细胞悬浮起来后，然后放置于30℃保温60-90分钟。其间每20 分钟颠倒混匀一次。（先悬浮起来，然后离心去除酵母细胞悬浮液）

- 为了获得高质量的酵母蛋白，培养酵母的时间不宜过长，一般为12-24个小时。
- 由于培养的酵母菌液浓度不同,因此加入**酵母细胞悬浮液**后放置于37℃保温的时间用户可以根据实验结果在处理的时间上进行调整,60分钟只是一个参考值。
- 如果酵母细胞悬浮液不够，也可以用浓度大于10mg/ml 的消解酶代替。

2. 离心除去**酵母细胞悬浮液**，按照每克酵母细胞/5ml 酵母细胞漂洗液的比列，混悬酵母细胞样品。

3. 离心除去**酵母细胞漂洗液**，按照每克酵母细胞/5ml 酵母细胞蛋白裂解液和50ul **100×蛋白酶抑制剂**的比列，混悬酵母细胞样品。

4. 混旋或颠倒试管几次后，20℃～37℃温育10～20分钟，同时轻轻摇动。

5. 细胞破碎后的匀浆液，根据您不同需要可以在12 000g 离心10min 到100 000g 离心1h 范围离心。沉淀弃去。上清即为含有目的蛋白质的粗提物。