

## 酵母总蛋白提取试剂盒 使用说明书

产品编号: SK2440

储存条件: RT, 未开封有效期 24 个月。

产品内容:

| Components |          | SK2440-50T |
|------------|----------|------------|
| 洗涤液        |          | 50 mL      |
| 提取液        | 提取液成分 I  | 10 mL      |
|            | 提取液成分 II | 0.3 g      |
| 玻璃珠        |          | 10g        |
| 说明书        |          | 1 份        |

产品介绍:

本产品通过使用玻璃珠震荡法, 结合化学裂解法破碎酵母细胞壁, 适用于多种酵母菌的培养物 (包括菌液或平板菌落)。提取的酵母总蛋白可用于 SDS-PAGE 凝胶电泳及免疫印迹 (Western Blot) 实验。本产品提取蛋白为变性蛋白, 不能用于蛋白活性检测等相关实验。

准备步骤:

将**提取液成分 II** 全部加到**提取液成分 I** 中, 充分混匀作为**提取液**备用, 未用部分-20 °C冻存。

操作步骤:

1. 5,000 rpm, 4 °C离心 5 min 收集酵母菌液细胞沉淀 (酵母菌液 OD 值 0.5-2.0)。
2. 加入 1 mL **洗涤液**震荡混匀, 5,000 rpm, 4 °C离心 5 min 沉淀酵母细胞, 弃上清。
3. 用 100  $\mu$ L **提取液**悬浮酵母细胞, 并快速转移到 1.5 mL 离心管中, 95-100 °C金属浴或水浴 3 min。
4. 加入 0.2 g **玻璃珠**, 旋涡震荡器上剧烈震荡 5-10 min。
5. 用移液器或者巴斯德吸管回收提取液。
6. 剩余玻璃珠的离心管中再次加入 100  $\mu$ L **提取液**, 稍加震荡, 再次回收提取液。
7. 合并两次提取液即为酵母总蛋白样品。

8. (可选步骤) 12,000 rpm, 4 °C离心 15 min, 上清含可溶性蛋白质, 沉淀含不溶性蛋白质。
9. 总蛋白样品于 95-100 °C金属浴或水浴 1 min, 可直接用于 SDS-PAGE 电泳 (无需添加 Loading buffer)。