

Yeast Protein Extraction Reagent (酵母总蛋白质提取试剂)

Code No. 9780

包装量: 500 μ l \times 5

运输温度: -20°C

保存温度: 4°C

制品说明

本制品是一种简洁、快速的提取酵母菌总蛋白质的试剂。该试剂在适当的温度下能够去除酵母菌的细胞壁，从而形成原生质体，释放细胞内的蛋白质，达到快速提取蛋白质的目的。使用本制品可以避免玻璃珠研磨、超声波处理或压榨法等传统的机械式操作。本制品适用于毕赤酵母、酿酒酵母以及假丝酵母等大多数酵母菌的蛋白质提取。使用本制品提取的酵母蛋白质纯度高、收量大，适合于蛋白质的电泳检测等后续实验。

制品内容

Yeast Protein Extraction Reagent* 500 μ l \times 5

* 制品中含有酵母破壁酶，使用后请立即置于 4°C 保存。不可在 4°C 以上环境下长期存放。

实验操作

- 取 $1\sim 5 \times 10^6$ 的液体酵母菌细胞至1.5 ml的Microtube中， $8,000\text{ g}$ ， 4°C 离心2分钟。
- 小心除去上清，向沉淀中缓慢加入1 ml 冰预冷的灭菌水，用移液枪轻轻反复吹打，使沉淀重悬。
- $8,000\text{ g}$ ， 4°C 离心2分钟。小心除去上清，尽量除净液体。
- 向沉淀中加入25 μ l的Yeast Protein Extraction Reagent，用移液枪轻轻反复吹打，使沉淀重悬。
- 放入 30°C 水浴中温浴30分钟以上，期间轻轻振荡离心管1~2次。以下操作，可按6a或6b进行。
- 将离心管从 30°C 水浴中取出，加入25 μ l的 $2\times$ Protein SDS PAGE Loading Buffer (Code No. 9172)，漩涡振荡2分钟，使沉淀重悬。
- 将离心管从 30°C 水浴中取出， $12,000\text{ g}$ ， 4°C 离心5分钟。小心除去上清，再向沉淀中加入25 μ l的PBS溶液、25 μ l的 $2\times$ Protein SDS PAGE Loading Buffer (Code No. 9172)，漩涡振荡2分钟，使沉淀重悬。
* Yeast Protein Extraction Reagent中含有酵母菌破壁酶，可能会对一些蛋白质的电泳检测有影响，因此可以先将Yeast Protein Extraction Reagent除去后再进行电泳。
- 取12.5 μ l上述6a或6b的悬浊液到新的1.5 ml Microtube中，在 100°C 条件下温浴10分钟后取10 μ l进行电泳检测。

实验例

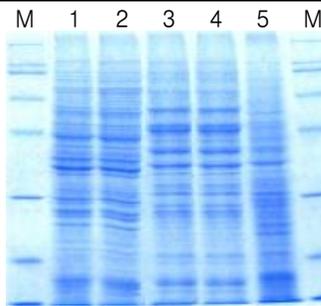
- 实验方法。
分别取 $\text{OD}_{600}\approx 0.2$ 的 *Pichia* (GS115 strain, X33 strain)、*Saccharomyces* (AH109 strain, Y187 strain)、*Candida* (Tropicalis strain) 液体培养液，离心收集菌体后使用本试剂提取蛋白质。
- 实验结果。
提取的各种酵母菌蛋白质含量达到 2.5 mg/ml，提取的蛋白质分子量大小分布在 20 KDa~200 KDa 之间。结果见右图。

Troubleshooting

- Yeast Protein Extraction Reagent 是否对所有酵母菌都适用？
一般情况下，Yeast Protein Extraction Reagent 适用于所有对酵母菌破壁酶敏感的酵母菌细胞的 Protein 提取。我们使用本制品对 *Pichia* (GS115, X33)、*Saccharomyces* (Y187, AH109) 以及 *Candida* (Tropicalis) 进行了蛋白质的成功提取。下表是文献中报道的利用 Yeast Protein Extraction Reagent 能够成功裂解酵母菌细胞壁的菌种一览表。

菌种名称

1. <i>Shizosaccharomyces</i>	10. <i>Graphioli phoenicis</i>
2. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	11. <i>Brettanomyces bruxellensis</i>
3. <i>Hansenula marakii</i>	12. <i>Candida colliculosa</i>
4. <i>Kluyveromyces lactis</i>	13. <i>Tremella mesenterica</i>
5. <i>Pichia anomala</i>	14. <i>Candida utilis</i>
6. <i>Lipomyces starkeyi</i>	15. <i>Kloeckera apiculata</i>
7. <i>Filobasidium floriforme</i>	16. <i>Trigonopsis variabilis</i>
8. <i>Ustilago maydis</i>	17. <i>Cryptococcus albidus</i>
9. <i>Rhodospodium toruloides</i>	18. <i>Phaffia rhodozyma</i>



【1/5 提取液，12.5% SDS-PAGE 电泳确认】

M: Protein Molecular Weight Marker (Broad)

1: GS115 菌株

2: X33 菌株

3: AH109 菌株

4: Y187 菌株

5: Tropicalis 菌株

- 细胞不能完全裂解？
细胞数量太多会导致裂解液不能完全裂解细胞。如果初始加入的细胞过多会使反应液变得十分粘稠，而细胞则会聚集成团，使裂解作用不充分。在此种情况下可以将 Yeast Protein Extraction Reagent 的量加倍，以达到完全裂解的效果。
- 蛋白质提取量较低，怎么办？
 - 细胞未能完全裂解。一般来说，每25 μ l的Yeast Protein Extraction Reagent可以对 $1\sim 5 \times 10^6$ 的细胞进行裂解，得到约2.5 mg/ml的酵母菌蛋白质。如果加入的细胞数量过多，会造成蛋白质提取量下降。如果菌体量增加，请相应增加裂解用的Yeast Protein Extraction Reagent的使用量。
 - 菌体不新鲜。提取用菌体的 OD_{600} 值超过对数生长期会造成提取蛋白质的量和质发生变化，一般建议在酵母菌的对数生长期时收集菌体，进行蛋白质提取，此时效果较佳。

注意

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经TAKARA BIO INC.书面许可授权或批准，不得制造、许诺销售、销售、进口Takara产品，或者使用Takara产品所有的相关专利及相关商标。如果您需要其他用途的许可授权，请联系我们，或访问我们网站 www.takara-bio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术(北京)有限公司翻译制作，最新版本文件请参考TAKARA BIO INC.网站。为正确使用 Takara 产品，您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

v201702Da