

Extraction des protéines par l'acide acétique

Solutions :

- Acétate de Mg 1M froid
- Acétate de Mg 0,1M froid
- Acide acétique glacial
- Acide acétique 1M

→ Cette méthode a pour but de séparer les protéines des acides nucléiques en solubilisant les protéines dans l'acide acétique et en précipitant les acides nucléiques par le Mg.

Protocole :

1. Ajouter à l'échantillon $\frac{1}{4}$ du volume d'acétate de Mg 1M pour obtenir une concentration finale à 200mM (75 μ L pour 300 μ L d'échantillon)
2. Ajouter 2 volumes d'acide acétique glacial
3. Incuber 1h dans la glace
4. Centrifuger à 12 000 rpm (12 000 g) pendant 10 min à 4°C
5. Récupérer le surnageant (contient les protéines)
6. Resuspendre le culot (acides nucléiques) avec 200 μ L d'acétate de Mg 0,1M et ajouter 2 volume d'acide acétique glacial
7. Centrifuger à 12 000 rpm (12 000 g), 5 min à 4°C
8. Récupérer le surnageant et rassembler avec le premier surnageant
9. Déposer les surnageants dans une membrane de dialyse
10. Dialyser dans au moins 200 volumes d'acide acétique 1M pendant 48h en changeant de bain toutes les 6-10 heures
11. Congeler les protéines à -80 et les lyophiliser (lancer le rotor avant de faire le vide) sur la nuit