

酵母总蛋白提取试剂盒

货号：BC3780

规格：50T/100T

保存：按照储存条件保存，保质期 1 年。

产品内容：

名称	50T	100T	Storage
破壁溶液 I	25mL	50mL	2-8℃
破壁溶液 II	25mL	50mL	2-8℃
裂解液	25mL	50mL	2-8℃
β-巯基还原剂	0.625mL	1.25mL	2-8℃，避光
蛋白酶抑制剂（100×）	0.25mL	0.5mL	-20℃，避光
PMSF（100X）	0.25mL	0.5mL	-20℃，避光

操作步骤（仅供参考）：

注：β-巯基还原剂，蛋白酶抑制剂（100×），PMSF（100X）这几个试剂使用前先用掌上离心机进行离心。

- 1、收集 OD600 = 1.0 酵母菌体，4℃，12000rpm 离心 5min，弃去上清液。
- 2、将菌体称重，按照比例（50mg：500 μL）向沉淀中加入 500 μL 破壁溶液 I，重悬菌体，冰上孵育 5min。
- 3、4℃，12000rpm 离心 2min，弃去上清，向沉淀中加入 500 μL 破壁溶液 II，重悬菌体，冰上孵育 5min。
- 4、在 500 μL 的裂解液中加入 5 μL PMSF，5 μL 蛋白酶抑制剂和 12.5 μL β-巯基还原剂；混匀，放置在冰上备用(根据实际用量准备适量裂解液)，现用现配。
- 5、4℃，12000rpm 离心 2min，弃去上清，向沉淀中加入 500 μL 上述提前备好的裂解液重悬菌液。室温震荡 40min~60min，或者煮沸 5min。
- 6、裂解结束后，4℃，12000rpm 离心 10min。收集上清用于后续实验。

注意事项:

- 1、裂解液在低温条件下可能会出现沉淀析出现象，37 度水浴加热至沉淀完全溶解再使用。
- 2、β-巯基还原剂低温状态下可能比较粘稠，可恢复室温后使用。
- 3、提取后的蛋白溶液中含有还原剂，如果要测浓度，请先沉淀蛋白，然后用 PBS 重新溶解蛋白后再进行测定，否则会影响结果。
- 4、按照每 50 mg 湿重加 500 μL 的破壁溶液和裂解液，菌体的量不能够过多，否则会使的菌体裂解不充分。
- 5、裂解后的酵母菌蛋白液，应在-80℃的冰箱中保存。
- 6、裂解液中盐离子浓度较高，必要时可除盐后使用。
- 7、如果提取磷酸化蛋白，需要加入磷酸酶抑制剂。
- 8、本试剂只能够用于体外实验科研实验，不能够用于临床、治疗和动物体内实验等，由此产生的后果，概不承担责任。