

## 细菌外膜蛋白提取试剂盒

货号: EX1960

规格: 50T/100T

有效期: 2-8°C保存, 有效期一年。

### 产品内容:

名称	50T	100T	储存条件
组份 A: 细菌外膜蛋白提取液 A	25ml	50ml	2-8°C保存
组份 B: 膜蛋白溶解液 B	10ml	20ml	2-8°C保存
组份 C: 蛋白酶抑制剂混合物	100ul	200ul	-20°C保存

### 注:

1. 蛋白酶抑制剂未开盖使用前也可以2-8°C储存。开盖使用后-20°C储存。
2. 蛋白酶抑制剂在2-8°C低温时是固体状态, 从冰箱取出后恢复至室温或37°C短时间水浴, 变成液体状态后离心至管底部再开盖。
3. 试剂拆封后请尽快使用完!

### 产品简介:

细菌外膜蛋白提取试剂盒可以从各种革兰氏阴性菌菌体中提取外膜蛋白。本试剂盒含有的独特配方能够有效溶解细菌外膜组份。提取过程简单方便。本试剂盒含有的蛋白酶抑制剂混合物, 阻止了蛋白酶对蛋白的降解, 为提取高纯度的蛋白提供了保证。

本试剂盒提取的蛋白可用于Western Blotting、蛋白质电泳、免疫沉淀、ELISA、转录活性分析、Gel shift 凝胶阻滞实验、酶活性测定等下游蛋白研究实验。本试剂盒提取的蛋白为具有天然蛋白构象的活性蛋白。

本试剂盒中不含有 EDTA, 与金属螯和层析等下游应用兼容。

### 自备试剂和仪器:

离心机、振荡器、涡旋混匀器、移液器、冰箱、冰盒, PBS缓冲液、蛋白定量试剂盒, 离心管、吸头、一次性手套

### 产品特点:

1. 使用方便。
2. 含蛋白稳定剂, 提取的蛋白稳定。
3. 紫外检测蛋白浓度时, 背景干扰低。
4. 蛋白酶抑制剂抑制了蛋白的降解, 蛋白酶抑制剂配方优化。蛋白酶抑制剂混合物包含 6 种独立的蛋白酶抑制剂; 每一种抑制剂可特异性抑制某一种或几种蛋白酶活性。该混合物优化的组成使其可以抑制几乎所有重要的蛋白酶活性, 包括丝氨酸蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、天冬氨酸蛋白酶、丙氨酰-氨基肽酶等。
5. 本品不含 EDTA, 可以用于金属螯合层析等下游应用。

## 使用方法：

### 一、使用注意事项：

1. 旋帽离心管装的试剂在开盖前请短暂离心，将盖内壁上的液体甩至管底，避免开盖时液体洒落。
2. 蛋白酶抑制剂在2-8°C时是固体状态，从冰箱取出后恢复至室温或37°C短时间水浴，变成液体状态后离心至管底部再开盖。
3. 实验过程中的所有试剂须预冷；所有器具须放-20°C冰箱预冷。整个过程须保持样品处于低温。
4. 蛋白酶抑制剂储存期间溶液如果出现沉淀，不影响使用，溶解后正常使用。
5. 如果试剂盒不能短时间内用完，蛋白酶抑制剂混合物不可以一次全部加入提取液。
6. 可以根据自己实验需要加入其它蛋白酶抑制剂单品。
7. 下游实验如果是进行特定蛋白酶或磷酸酶的酶活性检测，提取液可以不加蛋白酶抑制剂或磷酸酶抑制剂，注意提取过程保持低温操作，缩短离心时间。

### 二、操作步骤：

#### 1. 提取液准备：

每500 $\mu$ l提取液A中加入2 $\mu$ l蛋白酶抑制剂混合物，充分混匀后置冰上备用。

#### 2. 收集待提取菌体，用PBS洗菌体2次。

3. 按每50-150 mg湿重菌体样本加入500 $\mu$ l提取液A（大约菌体和提取液体积比1:2-1:5，完全淹没菌体即可），吹打混匀，在2-8°C振荡30分钟-1小时。

4. 将提取液在2-8°C下，12000 $\times$ g离心5分钟，取上清。

5. 将上清液在37°C水浴10分钟。

6. 在37°C，500-1000 $\times$ g条件下离心3分钟。

7. 此时液体分为2层，小心移除上层溶液，留管底部下层大约30-50 $\mu$ l液体。

8. 用50-150 $\mu$ l冷的膜蛋白溶解液溶解该溶液，即得细菌外膜蛋白样品。

9. 将上述蛋白提取物定量后分装于-80°C冰箱保存备用或直接用于下游实验。

### 常见问题分析：

#### 1. 蛋白浓度低？

膜蛋白丰度较低，需要尽可能加大细胞上样量。处理部分组织样本时可能没有裂解完全，导致蛋白浓度低。只要适当延长试剂A的处理时间即可。最好在持续振荡的条件下处理，没有振荡器也可间隔几分钟用吸头吹打混匀。

#### 2. 用什么方法定量蛋白？

建议用BCA法。不适合用Bradford法，因为试剂A中含有干扰Bradford法的组份，导致定量不准。如果已经进行过透析处理或者用脱盐柱改换过缓冲体系，则可以用Bradford法定量。

#### 3. 提取的蛋白具有活性吗？

本试剂盒不含有离子型去垢剂组份，不破坏蛋白的结构，没有对蛋白质之间原有的相互作用的破坏，蛋白均保持其天然构象和活性。

### 注意事项：

1. 本试剂盒仅供科学研究使用，不可用于诊断或治疗。
2. 最好使用一次性吸头、管、瓶或玻璃器皿，可重复使用的玻璃器皿必须在使用前清洗并彻底清除残留清洁剂。

3. 实验后完成后所有样品及接触过的器皿应按照规定程序处理。
4. 避免皮肤或粘膜与试剂接触。
5. 如果试剂不小心接触皮肤或眼睛，应立即用水冲洗。