

厚壁微生物蛋白提取试剂盒

货号: EX1840

规格: 50T/ 100T

有效期: 2-8℃保存, 有效期一年。

产品内容:

名称	50T	100T	储存条件
组分A: 厚壁微生物蛋白提取液A	25ml	50ml	2-8℃保存
组分B: 蛋白稳定剂B	250μl	500μl	-20℃保存
组分C: 蛋白酶抑制剂混合物C	100μl	200μl	-20℃保存

注:

1. 蛋白酶抑制剂未开盖使用前也可以2-8℃储存。开盖使用后-20℃储存。
2. 蛋白酶抑制剂在2-8℃低温时是固体状态, 从冰箱取出后恢复至室温或37℃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:

厚壁微生物总蛋白提取试剂盒可以从各种厚壁微生物菌体中提取总蛋白。包括各种难以裂解的酵母、丝状真菌、革兰氏阳性菌、芽孢、微藻、虫卵等有较厚的细胞壁的样品。

提取过程简单方便, 不需要机械研磨或有机溶剂。该试剂盒含有蛋白酶抑制剂混合物, 阻止了蛋白酶对蛋白的降解, 为提取高质量的蛋白提供了保证。

该试剂盒提取的蛋白可用于 SDS-PAGE 电泳检测、Western blotting、凝胶阻滞实验等下游实验。每毫升菌液大概可以提得5- 10mg蛋白。采用BCA或Lowry法进行蛋白定量。

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。

使用方法:

一、使用注意事项：

1. 正式实验前请选取几个样本做预实验，以优化实验条件，取得最佳实验效果
2. 螺旋盖微量试剂管装的试剂在开盖前请短暂离心，将盖和管内壁上的液体离心至管底，避免开盖时试剂损失。
3. 实验过程中的所有试剂须预冷；所有器具须放-20℃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。
8. 禁止与其他品牌的试剂混用，否则会影响使用效果。
9. 样品或试剂被细菌或真菌污染或试剂交叉污染可能会导致错误的结果。

二、厚壁微生物蛋白提取：

1. 提取液制备：

根据所需要提取的样本量，每 500 μ l 提取液 A 中加入 2 μ l 蛋白酶抑制剂混合物和 5 μ l 蛋白稳定剂，充分混匀后置冰上备用。

2. 在 4℃，10000 \times g 条件下将菌液离心 5min，弃上清，尽量吸干剩余液体，收集菌体。
3. 用PBS 洗菌体2 次。若为冷冻菌体直接进行下面操作步骤即可。
4. 按每100mg-150mg 湿重菌体样本加入 500 μ l 提取液，吹打混匀，2-8℃振荡 30-45分钟。
5. 在150w-300w，10s 超声/10s 间隔条件下冰浴超声至菌液变清。
6. 在 4℃，12000 \times g 条件下将提取液离心5分钟，将上清移入冷的干净离心管。
7. 即得到总蛋白样品。
8. 将总蛋白样品定量后分装置于-80℃冰箱或直接用于下游实验。

常见问题分析：

1. 蛋白浓度低？

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和试剂B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。部分革兰氏阳性菌可能较难裂解，最好进行超声处理。

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。