

## 细菌蛋白快速提取试剂盒（离心柱法）

货号：EX2430

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：蛋白提取液 A	25ml	50ml	2-8℃保存
组分 B：蛋白提取液 B	250μl	500μl	-20℃保存
组分 C：蛋白酶抑制剂混合物 C	100μl	200μl	-20℃保存
组分 D：蛋白离心柱 D	50 套	100 套	室温保存

### 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：

细菌蛋白快速提取试剂盒（离心柱法）提供全套试剂，适用于从各种菌体中提取总蛋白，包括革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌，可用于纯化蛋白的粗品制备及总蛋白制备。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。

试剂盒所配离心柱用来有效去除非蛋白质类杂质，并非采用离心柱吸附蛋白质。

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。

本试剂盒提取的蛋白样本含有高浓度的盐成分，不可直接用于2D电泳，也可以将最后样品除盐后再用于2D电泳。

### 自备试剂和仪器：

离心机、振荡器、匀浆器、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，不需昂贵设备；将蛋白提取的时间缩短至 30 分钟-1 小时。
- 2、可以处理各种细菌菌体，包括新鲜菌液和冰冻菌体。
- 3、含蛋白稳定剂，提取的蛋白稳定。
- 4、紫外检测蛋白浓度时，背景干扰低。

5、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. 禁止与其他品牌的试剂混用，否则会影响使用效果。
7. 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、细菌蛋白提取：

#### 1. 提取液制备：

根据所需要提取的样本量，每 500μl 蛋白提取液 A 中加入 5μl 蛋白提取液 B 和 2μl 蛋白酶抑制剂混合物，混匀后置冰上备用。

2. 在 4℃，10000×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 50-100mg 湿重菌体样本加入 500ul 蛋白提取液，吹打混匀，2-8℃振荡 20-30 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. 套上液体收集管，将提取液吸入蛋白离心管内管中，在 4℃，8000×g 下离心 5 分钟。
7. 收集套管内液体即得到细菌总蛋白。
8. 将上述蛋白提取物定量后分装于-80℃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？

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。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。

#### 4.提取时出现胶状沉淀？

蛋白提取液处理产物中有时会出现少量透明胶状物，属正常现象。该透明胶状物为含有基因组DNA等的复合物。不检测和基因组DNA结合特别紧密的特定蛋白的情况下，可以直接离心取上清进行后续实验即可；如果需要检测和基因组结合特别紧密的蛋白，则可以通过超声处理，300w/10秒间隔10秒，超声3分钟，随后离心取上清用于后续实验。检测一些常见的转录因子，例如NF-KappaB、P53等，则不必进行超声处理。

#### **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。