

细菌核糖体蛋白提取试剂盒

货号: EX1920

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
组分 A: 核糖体提取液 A	50ml	100ml	2-8°C保存
组分 B: 核糖体提取液 B	500ul	1ml	2-8°C保存
组分 C: 核糖体提取液 C	25ml	50ml	2-8°C保存
组分 D: 核糖体蛋白提取液 D	10ml	20ml	2-8°C保存
组分 E: 蛋白酶抑制剂混合物	100ul	250ul	-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:

核糖体是细胞内一种核糖核蛋白颗粒(ribonucleoprotein particle), 主要由RNA和蛋白质构成, 其惟一功能是按照mRNA的指令将氨基酸合成蛋白质多肽链, 所以核糖体是细胞内蛋白质合成的分子机器。核糖体无膜结构, 主要由蛋白质(40%)和RNA(60%)构成。核糖体按沉降系数分为两类, 一类(70S)存在于细菌等原核生物中, 另一类(80S)存在于真核细胞的细胞质中。他们有的漂浮在细胞内, 有的结集在一起。

细菌核糖体提取试剂盒可用于各种原核细菌样本的核糖体蛋白的提取。

本试剂盒提取的蛋白可用于 Western Blotting、蛋白质电泳、免疫沉淀、ELISA、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, 下游应用范围广, 提取液裂解细胞的能力较温和, 需要根据实际样本情况优化裂解时间。

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、细菌核糖体蛋白提取：

1. 提取液制备：

每 500 μ l 冷的总蛋白提取液中加入 2 μ l 蛋白酶抑制剂混合物，混匀后置冰上备用。

2. 收集对数生长期细菌细胞，离心后尽可能吸干培养基。
3. 用冷 PBS 洗涤两次，每次洗涤后尽可能吸干上清。
4. 每 500mg 湿重菌体中加入 1ml 冷的试剂 A 和 10 μ l 冷的试剂 B，充分混匀，置冰上 30 分钟。
5. 用高压细胞破碎仪或超声细胞破碎仪破碎细胞。
6. 在 4℃，1000 \times g 条件下离心 5 分钟。弃沉淀，收集上清。
7. 将上清在 4℃，20000 \times g 条件下离心 30 分钟，弃沉淀，收集上清。
8. 将上清在 4℃，170000 \times g 条件下离心 60 分钟。弃上清，收集沉淀。
9. 在沉淀中加入 400 μ l 冷的试剂 C，混匀。
10. 在 4℃，170000 \times g 条件下离心 60 分钟。
11. 弃上清，在沉淀中加入 50-100 μ l 核糖体蛋白提取液 D，充分混匀。
12. 即得到核糖体蛋白样品，置冰箱-80℃冻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。

植物核糖体蛋白丰度比较低，在条件允许的情况下，需要尽可能加大样品的上样量以提高蛋白浓度。

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。