



支原体膜蛋白提取试剂盒

货号: EX1980

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: 支原体膜蛋白提取液 A	25ml	50ml	2-8°C保存
组份 B: 支原体膜蛋白提取液 B	250ul	500ul	2-8°C保存
组份 C: 膜蛋白溶解液 C	10ml	20ml	2-8°C保存
组份 D: 蛋白酶抑制剂混合物 D	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:

支原体膜蛋白提取试剂盒是一种方便高效的高产膜蛋白提取试剂盒。支原体膜蛋白提取试剂盒可以从各种支原体中提取总膜蛋白, 可用于纯化蛋白的粗品制备及膜蛋白制备。提取过程简单方便。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具有天然活性, 提取的蛋白可用于 Western Blotting、蛋白质电泳、免疫共沉淀、质谱等各种下游蛋白研究。

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, 将蛋白提取的时间缩短至1小时。
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500ul提取液A中加入2ul蛋白酶抑制剂混合物，充分混匀后置冰上备用。

2. 收集好的支原体样本用PBS洗涤后，加入300-500ul冷的提取液A，充分混匀。
3. 置2-8°C条件下振荡30分钟-2小时。至支原体裂解完全，沉淀体积明显减少。
4. 将提取液在2-8°C低温下12000×g离心5分钟，取上清。
5. 在上清中加入3-5ul提取液B，充分混匀。
6. 在37°C水浴10分钟。
7. 在37°C，1000×g离心3分钟。
8. 此时液体分为2层，小心移除上层溶液，留管底部下层大约30-50ul液体。
9. 用1-2倍体积的膜蛋白溶解液C溶解该溶液，即得支原体膜蛋白样品。
10. 该样品可以用BCA方法进行定量，调整相应的浓度用于下游实验。

常见问题分析：

1. 蛋白浓度低？

膜蛋白丰度比较低，在条件允许的情况下，需要尽可能加大样本的上样量以提高膜蛋白浓度。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。

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。