

真菌膜蛋白提取试剂盒

产品货号：26289

产品规格：50T/100T

产品简介：

真菌膜蛋白提取试剂盒是一种快速高效的高产膜蛋白提取试剂盒。真菌膜蛋白提取试剂盒可以从各种大型真菌(蕈菌)中提取膜蛋白，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。

本试剂盒含有的独特配方能够有效溶解细胞膜组份，包括细胞质膜、核膜和各种细胞器膜。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WesternBlotting、蛋白质电泳、免疫沉淀、ELISA、转录活性分析、Gelshift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。

产品组成：

产品组成	50T	100T	保存
真菌膜蛋白提取液A	25ml	50ml	2-8℃
真菌膜蛋白提取液B	250ml	500ml	2-8℃
膜蛋白溶解液C	10ml	20ml	2-8℃
蛋白酶抑制剂混合物	100μl	200μl	-20℃

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。

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. 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。
3. 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。
4. 可以根据自己实验需要加入其它蛋白酶抑制剂单品。
5. 提取液A在使用前须一直置于2-8℃条件，否则下游膜蛋白提取时会导致不容易分层。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

- 膜蛋白电泳时loading buffer应该避免煮沸。
- 膜蛋白电泳时可以提高loading buffer的SDS含量。
- 离心机转速有相对离心力(RCF, $\times g$)和每分钟转速(RPM)两种表示方式,有些离心机设有RPM和 $\times g$ 显示切换,但部分离心机没有自动切换功能。需要用下面的公式进行换算: $g=r \times 1.118 \times 10^{-5} \times \text{rpm}^2$ (r为有效离心半径,即从离心机轴心到离心收集管底部中心位置的长度,单位为厘米)例如: 转速为3000rpm,有效离心半径为10cm,则相对离心力 (RCF, $\times g$) 为 $=10 \times 1.118 \times 10^{-5} \times 3000^2 = 1006.2(\times g)$ 。

二、操作步骤:

- 提取液准备:
每500 μl 冷的提取液A中加入2 μl 蛋白酶抑制剂混合物,充分混匀后置冰上备用。
- 取100-200mg真菌样本用手术剪刀尽可能剪碎,加入500 μl 提取液A后用匀浆机/匀浆器充分匀浆。
- 在2-8 $^{\circ}\text{C}$ 持续振荡1-2小时。
- 将提取液在2-8 $^{\circ}\text{C}$ 下10000 $\times g$ 离心5分钟,取上清。
- 在上清中加入5 μl 抽提液B,充分混匀。
- 在37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴10分钟。
- 在37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下1000 $\times g$ 离心5分钟。
- 此时溶液分为2层,小心移除上层,留下下层管底部大约50 μl 液体。
- 用1-2倍体积膜蛋白溶解液C溶解该溶液,即得膜蛋白样品。
- 将上述蛋白提取物定量后分装于-80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用或直接用于下游实验。

常见问题分析:

- 蛋白浓度低?
膜蛋白丰度较低,需要尽可能真菌上样量。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。
- 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更换过缓冲体系,则可以用Bradford法定量。
- 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:

- 本试剂盒仅供科学研究使用,不可用于诊断或治疗。
- 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。
- 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。
- 避免皮肤或粘膜与试剂接触。
- 如果试剂不小心接触皮肤或眼睛,应立即用水冲洗。

保存条件: 2-8 $^{\circ}\text{C}$, 保存12个月。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com