

## 革兰氏阳性菌蛋白提取试剂盒（pull-down、co-IP等）

产品货号：26158

产品规格：50T/100T

### 产品简介：

革兰氏阳性菌总蛋白提取试剂盒可以从各种革兰氏阳性菌菌体中提取总蛋白，试剂盒适用各种革兰氏阳性菌以及各种厚壁菌体的蛋白提取，也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。

本试剂盒含有蛋白酶抑制剂混合物和磷酸酶抑制剂混合物，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。

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，可以用于不同的下游应用。根据不同的菌液样本以及不同的培养状况，每毫升菌液大概可以提得2-10mg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。

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，需要除盐后再用于2D电泳。

### 产品组成：

试剂名称	50T	100T	保存条件
组分 A：革兰氏阳性菌蛋白提取液	25ml	50ml	2-8°C
组分 B：蛋白稳定剂	250μl	500μl	-20°C
组分 C：蛋白酶抑制剂混合物	100μl	200μl	-20°C

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！

### 自备材料：

离心机、振荡器、匀浆机/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。
2. 可以处理各种细菌菌体，包括新鲜菌液和冰冻菌体。
3. 将蛋白提取的时间缩短至 30 分钟-1 小时。
4. 采用温和的中性裂解组分，保持蛋白活性。
5. 含蛋白稳定剂，提取的蛋白稳定。
6. 紫外检测蛋白浓度时，背景干扰低。
7. 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 AEBSF、Aprotinin、Leupeptin、Pepstatin A、Bestatin、E-64，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。



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

8. 本试剂盒中不含有 EDTA，与金属螯和层析等兼容。

#### 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°C 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. 本试剂盒中提取液和蛋白酶抑制剂中均不含 EDTA，根据需要可自行加入。

##### 二、革兰氏阳性菌蛋白提取:

###### 1. 提取液的准备:

根据所需要提取的样本量，每 500 $\mu$ l 提取液 A 中加入 2 $\mu$ l 蛋白酶抑制剂和 5 $\mu$ l 蛋白稳定液，充分混匀后置冰上备用。

###### 【注】:

- 1) 根据需要处理的样品数量准备蛋白提取液，蛋白酶抑制剂混合物不可以一次全部加入提取液。
  - 2) 加过蛋白酶抑制剂的提取液一周内未使用完，再次使用前需要再次加入蛋白酶抑制剂。
  - 3) 以下步骤中使用的蛋白提取液为此步配制好的含蛋白酶抑制剂的提取液。
2. 在 4°C，10000 $\times$ g 条件下将菌液离心 5 分钟，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 湿重菌体样本加入 500 $\mu$ l 蛋白提取液，吹打混匀，冰上放置 20-30 分钟。

###### 【注】:

- 1) 细胞数量根据实验情况调整，每次的裂解液用量并不是一定的，请根据实际情况调整。
  - 2) 加入菌体体积的 3-5 倍体积的提取液，充分淹没菌体即可。
5. 在 150-300w，10s 超声/10s 间隔条件下冰浴超声至菌液变清。

###### 【注】:

- 1) 若无超声条件，可不超声，将提取液 A 置研钵研磨。若无研磨条件可以不研磨。
  - 2) 若无超声，将提取液在室温或 37°C 持续振荡 1-2 小时。) )
  - 3) 使用振荡器/摇床的较低转速，提取液能轻微晃动即可。
  - 4) 如果没有振荡条件，可以在室温或 37°C 静置，稍微延长提取液处理时间，中间每隔 10 分钟涡旋振荡混匀。
  - 5) 超声时间尽量短，提取液变清即可，一般不超过 20 分钟。
  - 6) 如果超声时出现黑色沉淀，说明超声功率过大，需要降低功率。
  - 7) 避免产生泡沫。
6. 在 4°C，12000 $\times$ g 条件下将提取液离心 5 分钟，弃沉淀，收集上清。
  7. 将上清移入另一干净离心管，即得革兰氏阳性菌蛋白样品。
  8. 将总蛋白样品定量后分装置于 -80°C 冰箱备用或直接用于下游实验。

###### 【注】:

- 1) 建议用 BCA 法进行蛋白定量。
- 2) 蛋白样品 -80°C 存放一年没有问题。注意不要被蛋白酶水解掉，不要被细菌污染。

#### 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。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



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

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. 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. 禁止与其他品牌的试剂混用，否则会影响使用效果。
4. 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。
5. 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。
6. 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。

**保存：**

2-8°C保存，有效期1年。



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