

Minute™ 厚壁微生物总蛋白提取试剂盒

目录号：YT-015

描述：

从厚壁微生物中提取蛋白质是非常复杂和困难的，传统方法提取时间长，需要机械研磨和有机溶剂。Minute 厚壁微生物总蛋白提取试剂盒提供了一种无需仪器，快速可靠的从厚壁微生物中提取蛋白的方法。可以从酵母，丝状真菌，革兰氏阳性和阴性菌，虫卵，微藻中等提取总蛋白。试剂盒同时提供优化的变性裂解液和天然裂解液供选择。与传统方法比无需复杂的实验条件，例如酵母蛋白提取时使用的 8M 尿素，机械研磨和反复煮沸等等。仅需单管操作，从酵母中可提取全范围蛋白无丢失，在某些分子量范围的蛋白质更优于其他方法。本试剂盒可用于对数期和静止期微生物。整个操作时间小于 10 分钟，得率可达 2-5 mg/ml。

应用：

提取的蛋白可应用于 SDS-PAGE、WB，IP，ELISA，酶活性检测和蛋白质组学分析。缓冲液可以兼容 IMAC 树脂用于 His-标签蛋白纯化。

试剂盒组分(50T)：

1. 20ml 变性缓冲液
2. 20ml 天然缓冲液
3. 5g 蛋白提取粉
4. 50 个 1.5ml 离心管
5. 2 根 1.5ml 塑料研磨棒

运输与储存：

常温运输，室温储存。

所需附加材料

台式离心机（最大离心力 14,000-16,000Xg）

产品重要信息

1. 变性缓冲液含有表面活性剂和其他化学物质，在低温下（如在冰上）孵育可能会形成沉淀，因此，不建议在冰上预冷。天然缓冲液可以预冷，不会形成沉淀。微生物沉淀可以在冰上孵育，步骤 1-3 在环境温度下执行。如果担心蛋白水解，建议在使用缓冲液之前添加蛋白酶抑制剂。**研究蛋白磷酸化，磷酸酶抑制剂应在使用前加入缓冲液。（请按照蛋白酶或磷酸酶抑制剂母液比例，例如母液是 100x，添加时按照 1: 100 添加，1ml 缓冲液中添加 10ul 抑制剂）。推荐使用 BCA 法测定蛋白浓度。**

2. 裂解液的选择要根据下游实验来决定，变性裂解液适合用于 SDS-PAGE，WB 实验，天然裂解液适合用于 ELISA，IP，CO-IP 等实验。

3. 使用变性裂解液提取的蛋白，做 WB 上样前仍需和 loading buffer 混匀煮制样品。

操作方法：

1. 在试剂盒提供的 1.5ml 离心管中离心收集微生物样品。确保样品体积在 20-30ul 左右。可以在另一个 1.5ml 离心管中加入 30ul 水比较体积估算。

2. 加入 1ml 水，最高速度离心 2 分钟清洗样品，弃去上清液。称取 80-90mg 蛋白提取粉加入管中（提取粉尽量不要接触管壁：可通过一张折叠蜡纸中称出粉末的重量，然后将粉末倒入管的底部避免）。加入 20ul **变性或天然缓冲液**。（裂解液二选一：变性裂解液适合用于 SDS-PAGE，WB 实验，天然裂解液适合用于 ELISA，IP，CO-IP 等实验。）

3. 用 1.5ml 研磨棒反复扭转研磨 2 分钟。再次补加 150-200ul 缓冲液（与第 2 步缓冲液相同），再次研磨约 30 秒（注意：研磨棒可以重复使用，在清洗剂中简单浸泡后，用水冲洗并用纸巾擦干即可）。盖上盖子大力涡旋震荡 10 秒钟确保样品混匀。

4. 离心机 4℃，最高速离心 3-4 分钟。将上清液转移到新管中（此部分为总蛋白）。如果希望增加蛋白产量，可以重复步骤 3-4 一次。通常变性蛋白产量为 3-5mg/ml，天然蛋白产量为 2-3mg/ml。提取的蛋白可以储存于 -80℃ 供将来使用。

应用提示：最终的蛋白质产量与步骤 3 中的研磨频率和时间成正比。研磨杵仅与试剂盒提供的 1.5ml 离心管匹配使用。

更多信息和活动请扫描
二维码关注官方公众号

