

一步法细菌活性蛋白提取试剂盒

产品货号: 26124

产品规格: 20T

产品简介:

一步法细菌活性蛋白提取试剂盒适用于从细菌裂解液中提取可溶性蛋白和包涵体蛋白回收。该试剂盒采用一种温和的、可通过透析去除的非离子型去污剂裂解细菌细胞,溶解蛋白,不需要超声等机械细胞破碎方法,且提取效率要高于机械细胞破碎方法。提取的可溶性蛋白绝大多数能保持其活性。该试剂盒提供的Lysozyme和DNase I可以提高分子量大于60kDa可溶性蛋白和蛋白包涵体沉淀的洗涤回收效率,提取的可溶性蛋白可以直接用于电泳、免疫共沉淀、蛋白质铰链、标记、Pull Down、EMSA、酶免分析(Western Blot、ELISA、RIA)等实验。可以使用20次。

产品组成:

产品名称	20T	保存条件
提取试剂	25ml	2-8℃
Lysozyme	0.1ml	-20℃
DNase I	0.1ml	-20℃
PMSF	300μl	-20℃
DTT	30μl	-20℃

产品特点:

1. 可以在 20min 内完成对细菌可溶性蛋白的提取。
2. 该试剂可以同时实现可溶性蛋白提取和蛋白包涵体洗涤、沉淀和回收。
3. 提取的可溶性蛋白可以直接用于电泳、免疫共沉淀、蛋白质铰链、标记、Pull Down、EMSA 等实验。
4. 提取的蛋白质可以透析去除离子和去污试剂,或将缓冲液替换为所需要的合适缓冲液。
5. 可以按照需要按比例扩大提取的菌体的量,比较合适于重组蛋白的快速筛选。

操作步骤:

1. 5000×g 离心 10 分钟收集细菌细胞沉淀。
注意:如果需要,可以在每毫升的提取试剂中加入 2μL of Lysozyme 和 2μL of DNase I。
2. 按照每 100mg 的湿重菌体中加入 0.5mL 的提取试剂(使用前向每 1mL 提取试剂中加入 1μL DTT 和 10μL PMSF),用枪头反复吹打使之形成均匀的悬液。
3. 将其放置在脱色摇床上 280rpm 室温振荡 20 分钟左右。
注意:实际需要时间可以根据细菌的不同品种做调整,如果提取试剂中已经加入了 Lysozyme 和 DNase I,请在 37°放置以促进对细菌细胞壁和核酸的消化。
4. 15000×g 离心 5 分钟,收集上清作为细菌可溶性部分,不溶解的细胞碎片和可能含有的包涵体沉淀留作分析或回收用。
注意,重复步骤 2~4 一次,将两次的上清合并,可以提高可溶性蛋白的提取效率,如果样品在细胞裂解后变得粘稠,请向抽提试剂中适量增加 DNase I 以消化核酸。
5. 将沉淀用 0.25mL 的提取试剂涡旋振荡悬浮,取少量(10-20μL)和上清一起做 SDS-PAGE 电泳以确认表达蛋白是否溶解或以包涵体形式存在或者两者兼而有之。
如果表达的蛋白是包涵体沉淀,可以继续按照以下步骤操作。
6. 在沉淀悬浮液中向每毫升提取试剂中加入 4μL of Lysozyme 和 2μL of DNase I,涡旋振荡以充分悬浮菌体,在 37°下放置 30~60 分钟左右。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

7. 加入 1mL 用双蒸水稀释 10 倍的提取试剂，涡旋振荡 1 分钟。
8. 15000×g 离心 5 分钟，收集包涵体沉淀。
9. 重复步骤 7~8 两次 可以进一步洗涤去除包涵体和溶液中的杂质。
10. 将包涵体沉淀重悬于 300μL 超纯水或缓冲液中，吸取 10~20μL 通过 SDS- PAGE 进行纯度检测或进一步纯化

注意事项:

1. 本产品可以从刚收集的细菌或冻存的细菌中提取蛋白，但从冻存的细菌提取效率会相对更高，本试剂从蛋白缺陷的BL21等几种常用的细菌中提取可溶性蛋白的效率较高，如果对于某些细菌的裂解效率不高,可以在提取前反复冻溶1~2次以提高提取效率。
2. 本产品只提供PMSF丝氨酸蛋白酶抑制剂，如果需要请购买我司生产的蛋白酶抑制剂混合物，EDTA也可以加入到提取试剂中，终浓度为5mM，但是它会抑制DNase I的消化作用，同时也会破坏NI-NTA树脂，所以加入时要根据下游实验的要求作出选择。
3. 加入Lysozyme和DNase I到提取试剂，可以提高蛋白质的提取效率，但是对于表达的蛋白分子量小于60k,而且全是可以溶解的，可以不加Lysozyme和DNase I。对于加入Lysozyme和DNase I会影响下游操作时，也尽量不要加。
4. 对于形成的包涵体蛋白，可以使用我司生产的包涵体溶解液溶解及后续纯化。
5. 如需要，请在实验前在抽提试剂中加入1倍浓度的我司生产的磷酸酶抑制试，再进行细菌活性蛋白质的提取。
6. 提取试剂在低温下容易起雾，请恢复至室温后再使用。
7. 可以使用Sephadex重力型脱盐柱脱盐或将缓冲液替换为所需要的目的蛋白质合适缓冲液。
8. 对于提取的蛋白质，可以采用我公司生产的改良型BCA法蛋白浓度定量试剂盒或非干扰型蛋白质浓度定量试剂盒或改良型Lowry法蛋白质浓度定量试剂盒对提取样品中的蛋白质进行定量。
9. 如果用于蛋白质质谱研究，请用我司生产的铜染或锌染或质谱用快速银染试剂盒对胶上的蛋白质进行染色，这些染色方法对蛋白质没有修饰作用，所以对质谱图没有影响。对于一般的染色，可以采用无毒型考马氏亮蓝染色液或高灵敏考马氏亮蓝染色液进行染色。
10. 产品中的保存条件及有效期均以未开封情况下计算，为了防止产品与空气接触发生化学反应影响产品性能，将未使用完毕的组分按存储要求保存同时建议开封后的组分尽快使用完毕。
11. 使用后，请旋紧瓶盖防止溶液挥发和与空气中的物质发生化学反应。
12. 本试剂盒只能够用于体外实验，不能够用于临床、治疗和动物体内实验等，由此产生的后果，概不承担责任。

有效期: 24个月有效。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>