

## 真菌蛋白提取试剂盒（蛋白组实验、质谱适用）

产品货号：26283

产品规格：50T/100T

### 产品简介：

真菌蛋白提取试剂盒（蛋白质组学实验适用）适用于从各种丝状真菌中提取总蛋白。优化的裂解液配方可以充分释放各种有隔膜菌丝和无隔膜菌丝蛋白以及各种菌丝变态体蛋白，提取过程简单方便，可在1小时内完成。

本试剂盒含有的独特配方能够有效溶解细胞膜组份。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。

本试剂盒的蛋白提取组份中不含有不可透析除去去垢剂组份，不含SDS、Triton X-100、chaps等可能影响质谱实验的组份，最后得到的蛋白质样品经过透析或者脱盐处理后将不含有去垢剂、高浓度盐等成分，基本可以满足下游任意的蛋白质组学相关实验研究。

本产品的蛋白酶抑制剂混合物中不含AEBSF，可以避免由于AEBSF导致的质谱峰漂移，因此使用本产品提取的蛋白样品可以用于质谱(Mass Spectrometry, MS)检测和分析，蛋白质组学(proteomics)等相关研究。

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。

本试剂盒提取的蛋白也可用于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。

### 产品组成：

产品组成	50T	100T	保存
组分A1：蛋白提取液A1	22.5ml	45ml	2-8℃
组分A2：蛋白提取液A2	2.5ml	5ml	-20℃
组分B：蛋白酶抑制剂混合物B	100μl	200μl	-20℃

注：

1. 蛋白提取液A2、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. 蛋白提取液A2避免反复冻融。
3. 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。
4. 试剂拆封后请尽快使用完！

### 自备试剂和仪器：

离心机、振荡器、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，从细胞，组织中提取蛋白不需经过研磨、反复冻融、超声破碎等前处理。
2. 提取过程简单方便，将蛋白提取的时间缩短至30分钟-1小时。
3. 含蛋白稳定剂，提取的蛋白稳定。
4. 紫外检测蛋白浓度时，背景干扰低。



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

5. 总蛋白提取液含多种有效成分，可以充分释放胞浆蛋白、核蛋白和膜蛋白，又可结合释出的蛋白防止沉淀。
6. 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5种独立的蛋白酶抑制剂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。

## 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. 离心机转速有相对离心力（RCF，×g）和每分钟转速（RPM）两种表示方式，有些离心机设置有RPM和×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： $g=r \times 1.118 \times 10^{-5} \times rpm^2$ （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，×g）为 $10 \times 1.118 \times 10^{-5} \times 3000^2 = 1006.2$ （×g）。

### 二、真菌蛋白提取:

#### 1. 提取液准备:

将试剂A1和试剂A2混合，配成蛋白提取液A，充分混匀备用。

每500ul真菌蛋白提取液A中加入2ul蛋白酶抑制剂混合物，混匀后置冰上备用。

#### 【注】:

- 1) 蛋白提取液A置4℃保存，长期不用的可以分装后-20℃保存。
- 2) 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。
- 3) 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。
2. 取培养丝状真菌，在4℃，5000×g条件下离心5-10分钟，小心吸取培养基，尽可能吸干，收集菌体。
3. 用冷PBS洗涤细胞两次，每次洗涤后尽可能吸干上清。
4. 将菌体置于研钵中用液氮研磨至粉末。

#### 【注】:

- 1) 若无液氮研磨条件，可直接用蛋白提取液研磨。
5. 每100mg菌体中加入300ul-500ul蛋白提取液，混匀后，在2-8℃条件下振荡20-30分钟。

#### 【注】:

- 1) 使用振荡器/摇床的较低转速，提取液能轻微晃动即可。
- 2) 没有振荡条件也可以不振荡，稍微延长提取液的处理时间，中间每隔几分钟用移液器吹打混匀即可。
6. 在4℃，12000×g条件下离心10分钟。
7. 将上清吸入另一预冷的干净离心管，即可得到真菌总蛋白。
8. 将上述蛋白提取物定量后分装于-80℃冰箱保存备用或用于下游实验。

#### 【注】:

- 1) 建议用BCA法进行蛋白定量。
- 2) 蛋白样品-80℃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。
9. 将蛋白样品透析处理或者脱盐柱脱盐处理后用于下游实验。

#### 【注】:

- 1) 蛋白样品中含有盐，需要脱盐处理后用于双向电泳。



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

2) 经透析或脱盐离心柱处理的蛋白样品不含有去垢剂和高浓度盐。

#### 常见问题分析:

1. 蛋白浓度低?

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。

2. 用什么方法定量蛋白?

建议用BCA法, 或者Bradford法。

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。
7. 本试剂盒仅供科学研究使用, 不可用于诊断或治疗。
8. 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。



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>