

酵母膜蛋白/胞质蛋白提取试剂盒

货号：EX2110

规格：50T/100T

有效期：2-8℃保存，有效期1年。

产品内容：

名称	50T	100T	储存条件
酵母膜蛋白提取液 A	25ml	50ml	2-8℃保存
酵母膜蛋白提取液 B	25ml	50ml	2-8℃保存
膜蛋白溶解液 C	10ml	20ml	2-8℃保存
蛋白酶抑制剂混合物	200μl	400μl	-20℃保存

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！

产品简介：

跨膜蛋白承担各种生物功能，膜蛋白样品的制备需要充分考虑到与下游的胶分析及质谱分析等应用配套，因此膜蛋白样本制备成为一个难以逾越的挑战。

酵母膜蛋白/胞质蛋白提取试剂盒是一种高效的高产膜蛋白提取试剂盒，酵母膜蛋白/胞质蛋白提取试剂盒可以从各种酵母样本中提取膜蛋白/胞质蛋白，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 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。

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°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. 提取液B在使用前须一直置于2-8°C条件，否则下游膜蛋白提取时会导致不容易分层。
6. 膜蛋白电泳时loadingbuffer应该避免煮沸。
7. 膜蛋白电泳时可以提高loadingbuffer的SDS含量。

二、操作步骤

1. 提取液制备：

每 500μl酵母蛋白提取液 B中加入 2μl蛋白酶抑制剂混合物，混匀后置冰上备用。

每 500μl膜蛋白溶解液 C中加入 2μl蛋白酶抑制剂混合物，混匀后置冰上备用。

2. 取适量酵母培养物，在4°C，2000×g条件下离心5-10分钟，小心吸取培养基，尽可能吸干，收集酵母沉淀。
3. 用冷PBS洗涤酵母两次，每次洗涤后尽可能吸干上清。
4. 每100-200μl体积酵母沉淀物中加入500μl酵母蛋白提取液 A，混匀后，在室温或37°C条件下轻轻振荡30分钟-1小时。
5. 在4°C，2000×g条件下离心5-10分钟，移除上清，收集沉淀。
6. 在沉淀物中加入500μl冷的(4°C)酵母蛋白提取液B，混匀。
7. 在2-8°C条件下轻轻振荡15-45分钟。
8. 将提取液在4°C条件下12000×g离心5分钟，取上清。
9. 将上清在37°C水浴10分钟。
10. 在37°C 1000×g离心3分钟。
11. 此时溶液分为2层，上层部分为酵母细胞质蛋白，下层为膜蛋白。
12. 小心移除上层胞质蛋白部分，留下管底部下层部分大约30-50μl液体。
13. 用50-100μl膜蛋白溶解液 C 溶解该下层溶液，即得酵母膜蛋白样品。
14. 将上述蛋白提取物定量后分装于-80°C冰箱保存备用或直接用于下游实验。

常见问题分析：

1. 蛋白浓度低？

膜蛋白丰度较低，需要加大细胞上样量。处理部分细胞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和B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。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，
3. 避免开盖时试剂损失。
4. 禁止与其他品牌的试剂混用，否则会影响使用效果。
5. 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。
6. 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。

