

Bacterial Protein Extraction Reagent

细菌蛋白提取试剂

产品简介

细菌蛋白提取试剂 (Bacterial Protein Extraction Reagent) 适用于提取大肠杆菌表达的重组蛋白及大肠杆菌自身表达的可溶性蛋白, 是一种无需超声、高压破碎, 能快速、高活性、高产量提取细菌蛋白的试剂。本产品为单组份, 操作简单、重复性好, 非常适合快速高通量的蛋白表达和筛选。本产品不仅可以用于抽提可溶性蛋白, 也可以用于洗涤去除粘附在包涵体表面的细胞碎片以获得高纯度的包涵体蛋白。需要注意的是, 本产品不能溶解包涵体。

产品特点

- 适用性广:** 产品不仅适用于大肠杆菌 BL21, 也同样适用于 DH5 α 、JM109 以及其它类似的细菌。
- 成分温和:** 所提取的蛋白通常能很好地保持蛋白原有的结构和生物学活性, 可用于多种生物化学和分子生物学用途, 兼容常见后续实验操作如 His 或 GST 等标签蛋白的纯化、ELISA、Western blot、IP、酶活性检测、荧光蛋白检测等。
- 反应迅速、操作简便:** 本产品能通过一步法快速(15 min)有效地裂解细菌、抽提细菌细胞质和细胞核内的蛋白, 提取过程中无需繁琐的超声或者高压破菌操作。
- 蛋白产量更高、活性更高:** 与超声破碎法、高压破菌法和溶菌酶处理等方法相比, 本产品通常能获得更高产量、更高活性的可溶性目的蛋白。

产品信息

货号	20139ES60/20139ES76
规格	100 mL/500 mL

储存条件

室温保存, 2 年有效。4°C 或 -20°C 可以保存更长时间。

使用说明

1. 小量可溶性蛋白抽提

- 按照常规方法进行重组蛋白表达菌株的培养以及目的蛋白的诱导表达。
- 取 1.5 mL OD600 为 0.5-2.0 的菌液, 12,000-16,000 g 4°C 或室温离心 2 min, 弃上清。
- 用 0.2-0.4 mL 细菌提取试剂重悬细胞, 可短暂涡旋混合以充分重悬。室温孵育 15 min。
- 12,000-16,000 g (16,000 g 更佳) 4°C 离心 5 min。
- 小心吸取上清, 即为抽提获得的可溶性蛋白。吸取上清时触及沉淀会导致抽提产物中含有更多的杂蛋白等。
- 通过 SDS-PAGE 或 Western blot 等方法检测目的蛋白存在于上清还是不溶性沉淀中。SDS-PAGE 电泳时, 每个样品的上样量推荐为 5-15 μ L。

2. 大量可溶性蛋白抽提

- 按照常规方法进行重组蛋白表达菌株的培养以及目的蛋白的诱导表达。
- 收集 250 mL OD600 约为 2.0 的菌液, 5,000 g 4°C 或室温离心 10 min, 弃上清后可获得约 1 g 的湿菌。后续可以直接用于裂解或冻存后用于裂解, 通常冻存后再裂解可以获得更高的蛋白得率。但冻融对于某些蛋白的活性可能会有负面影响。

响。

2.3. 按照每 1 g 湿菌加入 20-50 mL 细菌提取试剂(在使用前可加入适当的蛋白酶抑制剂)的比例进行抽提, 用移液管反复吹打混匀。加入较少的抽提试剂可以获得较高浓度的蛋白, 但抽提效率会有所下降; 加入较多的抽提试剂可以获得更高的抽提效率, 但蛋白浓度会相对较低。如果较易取得比较多的湿菌, 推荐使用较少的抽提试剂。此外, 为取得最佳结果, 可加入最终浓度为 2 mg/mL 的溶菌酶(Cat#[10402ES](#))和 2 mM 的 EDTA (Cat#[60126ES](#))以进一步改善抽提效果, 可以加入 UCF.ME® UltraNuclease 全能核酸酶 (Cat#[20156ES](#)) 以降低粘稠度。

2.4. 室温孵育 15 min, 充分抽提蛋白。

2.5. 12,000-16,000 g (16,000 g 更佳) 4°C 或室温离心 10 min。

2.6. 小心吸取上清, 即为抽提获得的可溶性蛋白。吸取上清时触及沉淀会导致抽提产物中含有更多的杂蛋白等。

2.7. 通过 SDS-PAGE 或 Western blot 等方法检测目的蛋白存在于上清还是不溶性沉淀中。SDS-PAGE 电泳时, 每个样品的上样量推荐为 5-15 μ L。

注意事项

1. 需自备 PMSF (Cat#[20104ES](#))或总体效果更佳的蛋白酶抑制剂混合物(细菌抽提用, 100X) (Cat#[20137ES](#))、蛋白酶抑制剂混合物(His-Tag 蛋白纯化用, 100X) (Cat#[20135ES](#)), 添加到本产品中以抑制蛋白降解。可以考虑选购 UCF.ME® UltraNuclease 全能核酸酶 (Cat#[20156ES](#)), 添加到本产品中以降低抽提产物的粘稠度。

2. 本产品仅作科研用途。

3. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并佩戴一次性手套操作。