

细菌蛋白抽提试剂盒

B665764-100T

储存温度 -20℃ 储存
运输条件 超低温冰袋运输

产品介绍

细菌蛋白抽提试剂使用温和的非离子型去污剂,适用于大肠杆菌及昆虫细胞表达的重组蛋白提取。提取过程中不需进行超声破碎,有效避免了外源蛋白的污染。本产品可应用于从细菌裂解液中提取可溶性蛋白。细菌蛋白抽提试剂盒在抽提试剂的基础上添加了溶菌酶、DNase I 和蛋白酶抑制剂混合物,可提高蛋白提取效率并减轻因 DNA 引起的粘稠现象,有效避免蛋白降解。所提取的蛋白保持了生物学活性,可进行 IP、Western blot、蛋白纯化等下游操作。

组件成份

Bacterial Protein Extraction Kit			
Cat No.	Component	Size	Storage
B665764A	Bacterial Protein Extraction Reagent	100mL	RT
B665764B	Protease Inhibitor Cocktail (100x)	1mL	-20℃
B665764C	Lysozyme (50 mg/mL)	200μL	-20℃
B665764D	DNase I (1000 U/mL)	100μL	-20℃

注意事项

1. 本产品适用于从新鲜或冻存细菌和昆虫细胞中提取蛋白。
2. 本品采用 Tris 缓冲系统,蛋白提取后的纯化操作,请使用相同的缓冲系统。
3. 使用本产品获得的蛋白裂解液,可用 BCA 或 Bradford 法进行蛋白定量。
4. 对于特殊的菌株,如果抽提效果不理想,可在抽提蛋白前冰冻样品。
5. 根据具体情况,可在本产品中加入蛋白酶抑制剂、盐、螯合剂、还原剂等。

操作步骤

昆虫细胞蛋白提取:

1. 低速离心收集细胞。每 1mL Bacterial Protein Extraction Reagent 中加入 10μL Protease Inhibitor

Cocktail 即为 1×工作液。

2. 称量细胞湿重，按 10mL/g 的量加入 1×工作液。
3. 重悬后，冰上孵育 20 分钟（冰上放置时间应根据细胞类型不同进行调整）。
4. 15,000×g 离心 15 分钟，分离可溶性蛋白。

细菌可溶性蛋白提取：

1. 5,000×g 离心 10 分钟，收集菌体。
2. 可选步骤：每 1mL Bacterial Protein Extraction Reagent 中加入 1μL DNase I (1,000 U/mL)、2μL Lysozyme (50 mg/mL) 和 10μL Protease Inhibitor Cocktail，涡旋震荡混匀。
3. 按照每克菌体沉淀加入 20mL Bacterial Protein Extraction Reagent 的比例，向菌体沉淀中加入抽提液，充分涡旋或用移液器上下吹打直至菌体完全重悬。
4. 重悬后，室温孵育 10-15 分钟（放置时间应根据细胞类型不同进行调整）。
5. 15,000×g 离心 5 分钟。
6. 转移上清至新的离心管中（上清中即为可溶性蛋白），进行蛋白定量及下游实验。

注意：如目的蛋白以包涵体形式存在，可使用包涵体蛋白溶解液进行溶解或优化表达条件增加可溶性蛋白的表达。

常见问题

问题	可能原因	解决方法
目的蛋白不溶	目的蛋白表达为包涵体	优化表达条件或使用包涵体蛋白溶解液,在蛋白抽提试剂中加入 Lysozyme 和 DNase I
加入 Lysozyme 目的蛋白仍没有提取出来	温度过低	将使用试剂恢复至室温
加入 Lysozyme 目的蛋白仍没有提取出来	Lysozyme	活性降低或失活，加入更多的 Lysozyme 或更换新的酶
提取物粘度高	DNase I 活性降低或失活	加入更多的 DNase I 或更换新的 DNase I，将镁离子的终浓度增加至 2 mM
蛋白抽提后仍有大部分蛋白存在于沉淀中	蛋白量过大	加入 Lysozyme 及 DNase I
蛋白抽提试剂有沉淀析出	温度过低	将蛋白抽提试剂恢复至室温