



# 细菌细胞总蛋白提取试剂盒

目录号：ZD404

## 试剂盒内容：

试剂盒组成	ZD404-1 (50次)	ZD404-2 (100次)
细菌细胞蛋白裂解液	50ml	100 ml
细菌细胞漂洗液	120 ml	2×120 ml
溶菌酶贮存液	3ml	6ml
100×蛋白酶抑制剂	0.6ml	1.2ml
50% 甘油	10ml	20ml
说明书	1份	1份

## 储存条件：

本试剂在室温干燥条件下，可保存 6 个月。溶菌酶贮存液、100×蛋白酶抑制剂和 50% 甘油 2-8℃保存。

## 产品简介

- 1、 总论：经典的细胞蛋白质分离流程由下述主要步骤组成：清洗组织或细胞；裂解细胞；离心去沉淀获得可溶性蛋白质粗提物（可依据目标蛋白质的理化特性特别的调配裂解缓冲液）；通过有机溶剂或盐析等沉淀离心、层析、电泳等方法进一步纯化，得到目的产物蛋白。
- 2、 本试剂使用温和的非离子型去污剂，适用于大肠杆菌表达的重组蛋白的蛋白提取。本产品可应用于从细菌裂解液中提取可溶性蛋白。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。

## 注意事项：<请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项>

- 1) 若目的蛋白不稳定，冰浴中孵育时间可以减少甚至取消，裂解液内加入 0.2 倍体积 50%甘油也可以稳定目的蛋白。

本试剂 4℃保存

## 操作步骤：

- 1、离心收集细菌细胞, 按照每克湿菌取用 5-6ml **细菌细胞漂洗液**的比例, 于 20°C~37°C将细胞悬浮起来后, 4°C, 12000g, 1-2min 离心除去**细菌细胞漂洗液**, 漂洗 2 次。(离心只是收集细胞, 转速、时间可自行调整。)
  - 如果细菌细胞漂洗液不够, 也可以用 TE buffer( H=7.4 --7.6 ) 代替。
- 2、离心除去**细菌细胞漂洗液**后, 按每克湿菌细胞, 加入 5ml **细菌细胞蛋白裂解液**, 250ul **溶菌酶贮存液**和 50ul **100×蛋白酶抑制剂**, 混悬细菌细胞样品。
- 3、混旋或颠倒试管几次后, 20°C~37°C温育 10~20 分钟, 同时轻轻摇动。
  - ❖ 若蛋白表达量较低, 建议结合超声粉碎, 置冰上后, 采用 300w, 10s 超声/10s 间隔, 超声 20min, 至菌液变清或者变色。
  - ❖ 若目的蛋白不稳定, 可冰浴中孵育, 且时间可以减少, 裂解液内加入 0.2 倍体积 50%甘油也可以稳定目的蛋白。
- 4、细胞破碎后的匀浆液, 根据您不同需要可以在 10 000g 离心 10min 到 100 000g 离心 1h 范围离心。沉淀弃去。上清即为含有目的蛋白质的粗提物。