



Bacterial Protein Extraction Kit

细菌蛋白抽提试剂盒

目录号：CW0888S (25 preps)
CW0888M (100 preps)

保存条件：Lysozyme、DNaseI、Protease Inhibitor Cocktail: -20°C, 其它组分：室温

产品内容

Component	CW0888S 25 preps	CW0888M 100 preps
Bacterial Protein Extraction Reagent	25 mL	100 mL
Protease Inhibitor Cocktail (100x)	250 μ L	1 mL
Lysozyme (50 mg/mL)	50 μ L	200 μ L
DNase I (1,000 U/mL)	25 μ L	100 μ L

产品简介

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。

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1 mL Bacterial Protein Extraction Reagent中加入10 μ L Protease Inhibitor Cocktail即为1 \times 工作液。
2. 称量细胞湿重，按10 mL/g的量加入1 \times 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 \times 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 \times g离心10分钟，收集菌体。
2. 可选步骤：每1 mL Bacterial Protein Extraction Reagent中加入1 μ L DNase I (1,000 U/ml)、2 μ L Lysozyme (50 mg/mL) 和10 μ L Protease Inhibitor Cocktail，涡旋震荡混匀。
3. 按照每克菌体沉淀加入20 mL 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 \times 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（CW0007）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后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
	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

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途