

EasyLys-B 细菌活性蛋白抽提试剂使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
ES-6215	EasyLys-B Bacterial Protein Extraction Reagent	100ml/500ml
	使用说明书	1 份

【保存条件】

4℃ 保存，一年有效。室温保存，至少 2 周内有效。

【概述】

本产品能够快速、温和、有效地在不需要机械破碎的情况下温和地从革兰氏阴性和革兰氏阳性细菌中提取蛋白质，抽提的蛋白能较好地保持其原有的空间结构和生物学活性，可用于多种生物化学和细胞生物学用途如亲和纯化等。

【产品特点】

即用型—在 Tris 或磷酸盐缓冲液配方中使用温和的非离子去污剂（专有）对革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌的一步法细胞裂解

快速且简便—只需将 EasyLys-B 试剂加入细菌沉淀中，通过混合 10-15 分钟进行孵育并在粒化细胞碎片后回收各种可溶蛋白

可兼容—完全可与添加蛋白酶抑制剂兼容，所获得的蛋白提取物可被用于蛋白测定、各种常见的亲和纯化方法（如 GST、6xHis）和其他应用

【操作方法】

1. **离心收集细菌细胞**：以 5000×g 的速度离心 10 分钟，收集细菌细胞沉淀。称量菌体重量，并继续进行下一步，或将菌体冻存在 -20℃ 到 -80℃ 之间。

2. **准备裂解液**：将所需量的 EasyLys-B 试剂（每克菌体沉淀加入 5 mL 试剂）恢复至室温。添加相应蛋白酶抑制剂，现配现用。

注意：对新鲜制备的革兰氏阴性细胞（如 E. coli BL21 菌株）裂解时，向试剂中加入最终浓度为 1 mM 的 EDTA（即每毫升 EasyLys-B 试剂加入 2μL 的 0.5M EDTA）。可选择添加溶菌酶至终浓度 0.2mg/ml，可增强裂解。选择添加 Benzonase 全能核酸酶至终浓度 50U/ml，可降解裂解后液体粘稠度。

3. **加入裂解液**：按每克细胞沉淀加入 5 mL 裂解液（含蛋白酶抑制剂/EDTA 等）。用移液

器上下吸打悬液(或涡旋), 直至完全均匀。

4. **室温孵育:** 在室温下轻轻摇动孵育 15 分钟。
5. **离心分离:** 以 $16,000 \times g$ 的速度离心 20 分钟, 以分离可溶性蛋白和不溶性蛋白。
6. 小心地从细胞碎片中吸取上清可溶性蛋白部分至另一新管中。使用 SDS-PAGE 和/或 Western blot 分析上清液和不溶性部分, 以确定哪一部分含有目标蛋白。

【故障排除】

问题	可能原因	解决方法
蛋白质产量低	细菌裂解不充分	将裂解孵育时间延长至 1 小时
		将裂解缓冲液与细胞沉淀物的比例提高至每克菌体沉淀加 10mL 裂解液
		为了提高裂解率, 请将细菌沉淀进行至少经过一次冻融循环

【注意事项】

1. 该产品仅实验室使用, 不适合农业/家庭/临床用途使用。
2. 为了您的安全与健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。