

描述: 海基生产的大肠杆菌蛋白提取液采用独特的中性裂解配方, 从而最大限度的提高了后续提取蛋白的活性。使用该溶液从大肠杆菌中提取蛋白不需要超声波破碎等复杂的操作步骤, 溶液置于 4°C 可长期保存, 使用方便。该溶液室温 30min 可破碎 95% 以上的细胞, 裂解后的溶液可直接通过 Ni-NTA 等纯化填料进行蛋白纯化。该溶液既可适用于小量蛋白表达检测, 也适用于大量蛋白的表达纯化试验; 既适用于纯化可溶性蛋白, 也适用于纯化包涵体蛋白。

主要特征

- ◆ 单组分溶液, 使用方便
- ◆ 裂解迅速, 蛋白不会变性
- ◆ 适用于小量或大规模蛋白表达
- ◆ 适用于可溶性蛋白和包涵体纯化

应用: 大肠杆菌的裂解和包涵体纯化。

储存: 置于 4°C 可保存 2 年。

操作方法

- ◆ 可溶性蛋白操作方法 (1 ml 菌液为例)

1. 8,000rpm 室温离心 3min 后, 弃上层培养基, 留取管底部菌体 (尽量弃除掉培养基)。

2. 加入 200 μ l (重悬体积不得少于 50 μ l) 大肠杆菌蛋白提取液重悬菌体, 用吸头吹打至无可见细胞团块。

注: 为降低溶液粘度, 可加入 Benzonase 核酸内切酶至 0.25 U/ μ L; 加入终浓度为 1 mg/ml 的溶菌酶效果更佳。

3. 置于室温孵育 30-60min, 期间轻弹离心管数次以加速裂解。

4. 裂解完成后 13,000rpm 于 4°C 离心 15-20min, 将上清转移至新的容器中, 溶液可直接进行下一步纯化或检测试验。

- ◆ 包涵体蛋白操作方法

5. 上述步骤 4 中, 弃上清, 保留沉淀组分, 用 200 μ l 的大肠杆菌蛋白提取液重悬沉淀。

6. 加入溶菌酶至终浓度 1 KU/ml, 混合均匀, 室温孵育 10 min。

7. 加入 800 μ l 的灭菌水混合均匀。

8. 13,000 rpm 室温离心 15-20min, 弃上清后用 900 μ l 灭菌水重悬沉淀, 然后加入 200 μ l 大肠杆菌蛋白提取液, 混合均匀。

9. 13,000rpm 室温离心 15-20min, 重复步骤 8 三至五次。

10. 将沉淀溶解于变性溶液中, 进行下一步纯化或复性试验。