

细菌蛋白提取试剂盒

说明书修订日期：2015.10.27

Cat Number: KGP450-KGP4100

Store at -20°C for 12 months

For Research Use Only (科研专用)

一、试剂盒说明

本试剂盒用于从培养细菌中提取蛋白，用含有蛋白酶抑制剂的裂解缓冲液 Lysis Buffer 裂解细菌，作用温和，提取过程简便高效。获得的蛋白可用于 Western Blot、免疫共沉淀等后续研究。

二、试剂盒组份

组份	KGP450 50 tests	KGP4100 100 tests	储存温度
Lysis Buffer	50mL	100mL	2-8°C
蛋白酶抑制剂混合物	50μL	100μL	-20°C
1M DTT	50μL	100μL	-20°C, 避光
PMSF (100mM)	500μL	1000μL	-20°C

三、操作步骤

1. 菌液离心收集菌体后，用 PBS 将菌沉淀重悬洗涤 2~3 次；
2. Lysis 工作液配制：每 mL 冷 Lysis Buffer 加 1μL 蛋白酶抑制剂、1μL DTT 和 10μL PMSF 混匀，冰上保存待用；
3. 按原菌液体积 1/5~1/10 加入 Lysis 工作液重悬菌体(或加入 5 倍于细胞沉淀体积的 Lysis 工作液)，4°C 孵育 10min；
4. 冰浴超声(超声条件可参考：300w，超声 10s，停止 10s，共 20 分钟；至超声完全，具体可视实际情况而定)；

如无超声条件可反复冻融 3 次；

【注：如何判断是否超声完全

- (1) 外观判断：超声前菌悬液浑浊，超声完全后变得透明、清澈。
- (2) 液体的粘滞性：超声后菌液从枪头滴下不粘连。
- (3) 高速离心（一般用 6,000 g 10 min），沉淀是未破碎或破碎不完全的菌体。
- (4) 染色：破碎后的菌液涂片，革兰氏结晶紫溶液染色 0.5 分钟，镜检。】

5. 4 °C，14 000 rpm 离心 10 min，收集上清为蛋白提取物，蛋白定量（Bradford 法、BCA 法）；
6. 蛋白提取物分装保存于-70°C,避免反复冻融。

四、 注意事项

1. 所有接触样品的用具及试剂均需预冷。
2. 提取蛋白后，如有必要，可透析除去表面活性剂。
3. 如果超声时出现黑色沉淀，说明超声功率太强。
4. 超声时间太长、功率太高对蛋白活性会有影响。
5. 超声时尽量防止泡沫的产生。

凯基相关产品（详见凯基网站 <http://www.keygentec.com.cn>）

2. 蛋白提取

核蛋白和胞浆蛋白提取试剂盒
全蛋白提取试剂盒
膜蛋白和胞浆蛋白提取试剂盒
线粒体蛋白提取试剂盒
磷酸化蛋白提取试剂盒（简易型）
活性蛋白提取试剂盒
红细胞裂解液

3. 蛋白定量

BCA 法蛋白定量检测试剂盒
Bradford 法蛋白定量检测试剂盒
Lowry 法蛋白定量检测试剂盒

4. 蛋白染色

蛋白质银染检测试剂盒
蛋白质考马斯亮蓝染色检测试剂盒
考马斯亮蓝蛋白快速染液

5. 蛋白分子量 Marker

6. Western blotting 组装试剂盒

7. Western blotting 化学发光试剂盒