

冻融法大肠杆菌专用裂解液（非变性，含PMSF）

产品货号：D10040

产品规格：100ml/500ml

产品简介：

在大肠杆菌蛋白制备过程中，细胞裂解是获取目标蛋白的关键环节。大肠杆菌专用裂解液是一款专为裂解大肠杆菌而设计的高效产品，只需将菌体与裂解液混匀后，冻融一次即可破碎菌体，释放蛋白，不再需要使用传统裂解方法如超声破碎、高压均质、溶菌酶解等。本裂解液不含还原剂、强变性剂等烈性成分，组分温和，对绝大多数蛋白结构和活性无影响，可用于后续蛋白活检测等常规生化分析、标签蛋白的分离纯化或蛋白表达筛选等实验。

产品组成：

试剂名称	100ml	500ml	保存条件
冻融法大肠杆菌专用裂解液（非变性）	100ml	500ml	2-8℃
PMSF 干粉	20mg	100mg	2-8℃
PMSF 溶剂	1ml	5ml	2-8℃
磷酸酶抑制剂 Cocktail（100×，干粉）	1ml	5×1ml	2-8℃

产品特点：

1. 操作简便：产品中包含蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂成分，只需简单的混匀和冻融操作，即可破碎菌体，释放蛋白，完成提取流程。
2. 高效裂解：对于蛋白的提取效率大于超声破菌的 80%。
3. 组分温和：本裂解液不含还原剂、强变性剂等烈性成分，可维持蛋白原本空间结构。
4. 下游兼容：可直接用于 GST/His 标签的亲亲和层析纯化蛋白，无需溶液置换操作。
5. 灵活搭配：可搭配全能核酸酶降解菌体裂解后的核酸，以降低裂解液粘度。

操作步骤：

建议以菌体沉淀（g）/裂解液（mL）= 1:30 比例搭配使用，以充分破碎细胞。裂解液的添加比例可根据表达量与所需蛋白浓度在 1:10 至 1:50 范围有所调整。

1. 4℃ 4000×g 离心 20min 或 4℃ 12,000×g 离心 1min，弃上清，收集大肠杆菌菌体沉淀。
2. 取适量裂解液，按体积比 100:1 加入 20mg/mL PMSF 和磷酸酶抑制剂，现用现加。
注：磷酸酶抑制剂干粉加入 1mL 双蒸水，即为 100×磷酸酶抑制剂 Cocktail 溶液。
例：3mL 裂解液使用前加入 30μL PMSF，30μL 磷酸酶抑制剂，搭配混入 0.1g 菌体沉淀。
3. 将裂解液和菌体吹打混匀，转移重悬菌液置于-20℃或-80℃冰箱至完全凝固。
注：若暂时不需要解冻破碎，可以在-80℃冰箱保存约 3-30 d。保存时长主要跟蛋白性质有关，蛋白越稳定保存时间越长。
4. 裂解时取出室温自然化冻，4℃ 12,000×g 离心 15-20min，收集裂解上清或沉淀并置于冰水浴或冰上留作后续实验（可溶性蛋白在上清中，包涵体蛋白在沉淀中）。
注：若上清浑浊可再次离心，上清中如混有不溶性杂质会影响后续纯化获得的蛋白浓度。
5. （选做）如果裂解后上清非常粘稠，可加入全能核酸酶降解核酸，降低上清粘稠度，或者使用注射器反复抽吸，以剪切粘稠的基因组 DNA 等。然后再次离心。
6. 使用 BCA 蛋白浓度检测试剂盒和 SDS-PAGE 电泳检测裂解效果，如图所示：



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

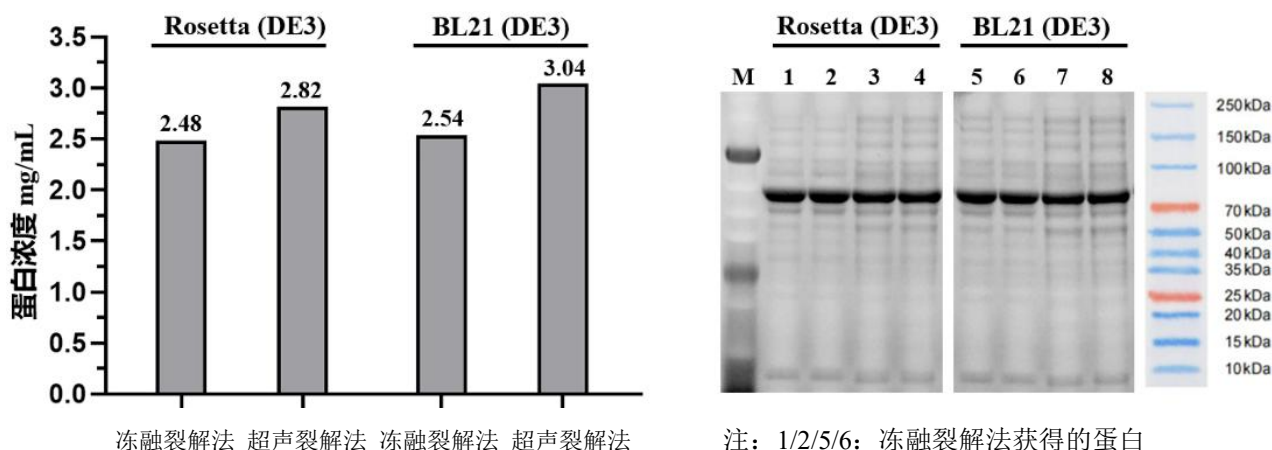
地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com



注：图为不同破菌裂解方式下，不同菌株的蛋白提取情况。左图为 BCA 检测的蛋白浓度，右图为对应的 SDS-PAGE 效果，每组 2 个重复。蛋白 Marker（10-250 kDa），使用一步法免染 PAGE 凝胶（10%），在紫外下对比总蛋白的提取效果（右图）。

注意事项：

1. 因产品中所含物质竞争性地抑制了 MBP 蛋白与直链淀粉树脂的结合，因此本产品与 MBP-tag 纯化体系不兼容。其它常见的 His-tag、GST-tag 等技术体系不受影响。
2. 可以根据需要在裂解液中额外添加其他蛋白酶抑制剂，包括蛋白酶抑制剂混合物（细菌，100×），通用蛋白酶抑制剂（100×）或根据具体用途选择蛋白酶抑制剂混合物（通用型，质谱兼容）等。
3. 裂解液的融化过程建议在室温条件下自然解冻，低温下的缓慢化冻会降低蛋白得率。
4. 自然解冻裂解菌体后续的操作建议在 4℃或冰上进行，防止蛋白降解。
5. 如有必要，可以考虑选购全能核酸酶降低产物的粘稠度。
6. 本产品仅限科研使用。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴好一次性手套操作。

常见问题：

1. 抽提蛋白产量低：
 - a. 菌体裂解后上清粘稠度太高。增加裂解液加入比例或添加全能核酸酶等以降低粘稠度。
 - b. 菌体浓度与处理量不匹配：当菌体浓度过高或单次处理体积过大时，冷冻过程中体系内部温度不均，部分菌体无法充分结冰；解冻时也难以实现均匀溶解，导致局部菌体裂解不充分，整体效率降低。
 - c. 解冻方式不当，建议使用室温条件自然融化。
 - d. 菌体保存时间过长或条件不当，可能导致菌体难以裂解，建议换用新鲜培养菌体进行实验。
 - e. 菌体添加裂解液后未混匀或冷冻不充分导致裂解不彻底。
2. 蛋白降解：
 - a. 磷酸酶抑制剂和 PMSF 制成溶液后，需在-20℃保存。
 - b. 蛋白酶抑制剂需用现用现加，未添加蛋白酶抑制剂、抑制剂过期、添加比例不准确或蛋白酶抑制剂冷冻条件下析出未充分重新溶解，可能会造成蛋白降解。
 - c. 自然解冻后续冰上操作不严格，存在温度过高或时间过长。需在冰上进行，避免蛋白降解。
 - d. 菌体保存时间过长或条件不当，建议换用新鲜培养菌体进行实验。

保存条件：

常温运输；2-8℃ 储存，保质期 18 个月。干粉制成溶液后-20℃ 保存。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com