

产品说明书

品名：Y-Tec 大肠杆菌超级裂解液

英文名：Y-Tec E. coli super Lysis Buffer

货号：YSD0104-10/YSD0104-100/ YSD0104-500

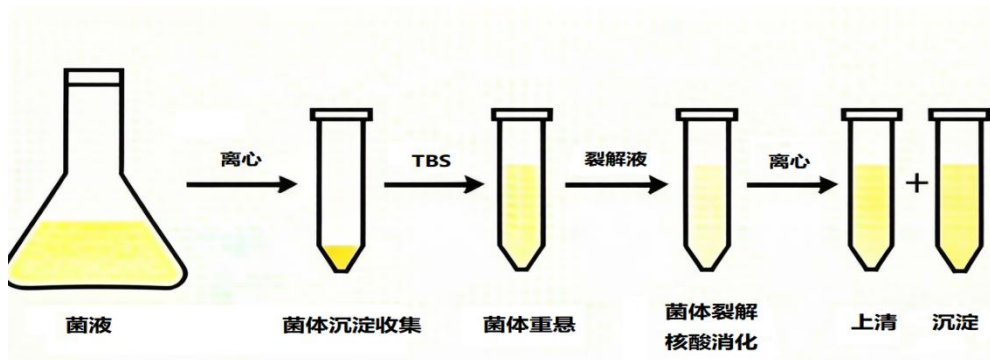
规格：10ml/100mL/500ml

►产品特色：

Y-Tec 大肠杆菌超级裂解液(Y-Tec E. coli super Lysis Buffer)，是专用于大肠杆菌菌体裂解的裂解液，无需超声，操作快速(无需超声，10min 内完成)、成分温和(不含变性溶剂成分，可保持原始蛋白活性与结构)、高效裂解(1min 即可释放>80%菌体蛋白)，释放菌体内蛋白。

本产品为单组份，操作简单、重复性好。含有的溶菌酶，核酸酶成分，可以在 10 分钟内破裂细菌细胞壁，将其降解为胞壁二糖；含有的核酸酶可消化菌体内的 DNA 和 RNA 核酸成分，将其降解为寡聚核苷酸片段。使用本产品可以有效降低细菌裂解后上清粘度，抑制目的蛋白的降解，提高后续样品澄清效果，提升样品上柱纯化的效率，减少内毒素污染。

►操作步骤：



1. 对细菌进行培养，诱导表达目的蛋白。
2. 通过离心、超滤等适当方法，去除发酵液上清，收集菌体，对菌体进行称重，记录重量。

3. 菌体重悬

按 1g 湿菌体(约 300ml 菌液离心后质量)对应加入 9mL TBS 缓冲液(20 mM Tris, 150 mM NaCl, pH 7.6)的比例，对菌体进行充分重悬,请务必确保重悬分散充分，尽量采用旋涡震荡、磁力搅拌。

注：重悬缓冲液不建议使用磷酸盐(PBS)成分，磷酸盐会部分抑制核酸酶活性，若选择磷酸盐 buffer 重悬，可适当延长裂菌时间 10-20min。

4. 菌体裂解

(1) 按照菌体重悬液体积的 1/9 (V/V)，举例：用 9 mL TBS 缓冲液重悬菌体，加 1 mL

裂菌液)加入 Y-Tec 大肠杆菌免超声快速裂解液, 搅拌或振荡混合均匀。

(2) 将加入裂解液的样品置于 4-25℃条件下(可根据蛋白稳定性进行合理选择), 裂解 3-10 分钟(建议 4℃-10min), 裂解结束会看到菌体悬液从浑浊状态逐步会变清亮半透明。

注: 针对可溶性蛋白, 可选择快速裂解, 约 3 分钟即可释放 85%以上目的蛋白至上清中; 针对包涵体蛋白, 选择更长裂菌时间 10min, 以保证充分消化细胞壁, 获得纯度更高的包涵体。

(3) 裂解结束后离心样品(离心力>8000g) 5min, 分离上清与沉淀。若目的蛋白为可溶蛋白, 取上清进行后续纯化; 若目的蛋白是包涵体, 收集沉淀样品, 对沉淀中的包涵体进行洗涤、变性溶解后, 使用适当方法进行纯化。

➔保存条件:

4℃运输, 4℃可短期保存 60 天, -20℃可长期保存 24 个月

➔注意事项:

1. 本产品成分含有溶菌酶与核酸酶成分, 建议收到后第一时间分装处理保存至-20℃以避免反复冻融, 溶菌酶消化细胞壁方式进行破壁, 会释放胞壁二糖成份, 可竞争结合麦芽糖结合蛋白的底物结合位点, 因此本产品与 MBP-tag 纯化体系不兼容。其它常见的 His-tag、GST-tag、Tactin II-tag、FC-tag、S-tag、protein A-tag、CBD-tag 等标签纯化不受影响。

2. 本产品成分含温和的非离子型去垢剂, 不会造成蛋白失活, 使用的复合溶菌酶以及超级核酸酶均不带纯化标签, 不会干扰下游纯化实验。

3. 包涵体表达蛋白优化建议:

(1) IPTG 诱导浓度: 10 μM-1mM, 诱导剂浓度对于目的蛋白的溶解性影响不大, 一般无需在摸索诱导剂浓度上浪费时间, 一般推荐使用 0.1 mM 为最佳 IPTG 诱导浓度。

(2) 若希望改善蛋白可溶比例, 优先考虑低温以及增加促溶标签。乳糖也可以很好的诱导特定启动子的表达, 最终收获的菌量会比 IPTG 更高。

(3) LB 培养基中, 37℃诱导 4 小时目的蛋白表达量即达到高峰, 可以收集菌体。如果使用低温诱导, 诱导时间可适当延长至 6-8 小时。过夜诱导对于大部分蛋白的表达并没有明显的收益, 菌量增加很少但降解条带增多。

4. 实验室的 LB 培养基表达, 1L 培养液约收获菌体约为 3g, 可按照 1L 收获的菌体加入 27 mL TBS 缓冲液, 低温震荡或者超声清洗槽内超声分散完全后加入 3ml Y-Tec 大肠杆菌免超声快速裂解液(如果是发酵罐高密度发酵, 1L 培养基收获菌体可达 100 g(需按比例增加裂解液)。收获菌体暂时不进行后续纯化实验, 需保存在-20℃或-80℃冰箱中以防止降解。

5. 室温 20-25℃条件下, 裂菌液含有的酶活力较高, 但通常推荐 4℃低温裂菌, 以控制目的蛋白的降解。

6. Y-Tec 大肠杆菌免超声快速裂解液不含有螯合剂 EDTA, 不会造成镍离子的脱落, 但通常考虑到后续放大的重复性, 在使用镍亲和填料体系的时候, 推荐使用第三代 Ni Smart(或 Ni TED)亲和填料, 这一产品高度耐碱清洗, 可耐受多次重复使用无需再生。

7. 本产品仅供科研, 请勿用于医药、临床诊断或治疗, 食品及化妆品等用途。