

## EasyLys-B 细菌活性蛋白提取试剂（免超声）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°C保存，有效期 12 个月

### 【概述】

本产品采用优化的非离子去污剂配方，无需超声破碎或高压匀质，即可温和、快速地从革兰氏阴性（如 *E. coli*）和革兰氏阳性（如 *B. subtilis*）细菌中提取活性蛋白质。抽提过程能够最大限度地保留蛋白的天然空间结构与生物学活性，直接兼容下游的亲层析（GST/His-tag）、BCA 蛋白定量及 Western Blot 等实验。

### 【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 10-15min 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

### 【操作步骤】

- 蛋白酶抑制剂（必选）**：临用前加入（如 ES-8315），防止蛋白降解。
- EDTA（推荐用于阴性菌）**：终浓度 1mM。可螯合金属离子，破坏革兰氏阴性菌外膜。
- 溶菌酶（推荐）**：终浓度 0.2mg/mL。用于降解细胞壁肽聚糖。

### 【操作步骤】

- 离心收集细菌细胞**：以 5000×g 的速度离心 10min，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°C 到-80°C 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 mL EasyLys-B 试剂加入 2 $\mu$ L 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 15min。

5. **离心分离：**以 16,000 $\times$ g 的速度离心 20min，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
蛋白发生降解	内源蛋白酶活性强	1. 必须补加蛋白酶抑制剂；2. 裂解及离心步骤尝试在 4 $^{\circ}$ C 进行。

#### 【注意事项】

- 结晶析出：**本试剂在室温（25 $^{\circ}$ C）下可稳定存放 2 周。如出现少量沉淀，请置于 37 $^{\circ}$ C 水浴溶解并摇匀后使用，不影响效果。
- 兼容性：**本试剂完全兼容 BCA 蛋白定量（如 EK-5001）。
- 科研用途：**该产品仅实验室使用，不适合农业/家庭/临床用途使用。
- 安全防护：**为了您的安全与健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。