



飞刀™ 快速裂菌试剂盒 (CutE.coli Lysis Kit)

目录

1. 产品介绍.....	1
2. 操作步骤.....	2
3. 补充信息.....	2
4. 订购信息及相关产品.....	2

1. 产品介绍

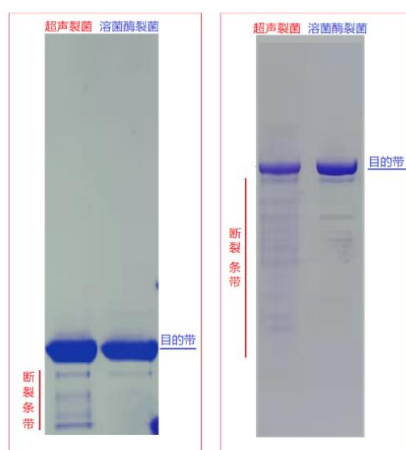
1.1 产品简介

大肠杆菌是实验室最常用的革兰氏阴性菌原核表达体系。革兰氏阴性菌的细胞壁由内外两层脂双层细胞膜夹杂一层肽聚糖组成。肽聚糖的糖链部分由高度重复二糖单元构成 (N-乙酰葡萄糖胺和 N-乙酰胞壁酸以 beta-1,4 糖苷键连接)，肽聚糖的肽段部分通常是通过丙氨酸的氨基和胞壁酸的羧基形成酰胺键，不同肽段的侧链之间再形成直接的交联。

常见的大肠杆菌裂解方法有两大类，两类方法都是通过破坏细胞壁的内外脂双层膜以及肽聚糖的完整结构，实现细菌的裂解。1) 物理方法，包括了超声法、均质法、研磨法、冻融法。物理方法的优势在于不引入杂质成分、成本低、效率高。超声破碎法是当前实验室中裂菌 (0.5-5 L 培养物) 的首选；工业级别的大体积高密度发酵菌体通常使用均质破碎方法，此方法可以一小时处理 10 L 以上菌体而无需耗材。研磨法和冻融法由于处理通量和效率的限制，往往只在特定的实验中使用。2) 化学方法，包括了有机溶剂法、酸碱裂菌法、溶菌酶消化法。化学方法的优势在于不受体积的限制，可以处理微升级别样品。其中酸碱裂菌法速度快、效率高，但条件剧烈不适合维持蛋白的天然构象，此方法在质粒抽提中运用最为广泛。有机溶剂法也易造成蛋白的失活，仅适合特定应用方向。

飞刀™ 快速裂菌试剂盒 (CutE.coli Lysis Kit) 可用于大肠杆菌 (E.coli) 等革兰氏阴性菌的快速、温和、低成本裂解，释放胞内蛋白以及消化核酸。产品操作简单、重复性好，可有效降低裂菌上清粘度，保障后续蛋白纯化。飞刀™ 快速裂菌试剂盒的 A 液含有复合溶菌酶，可以在细菌细胞壁的不同位置高效切开裂口，实现胞内蛋白的完美释放。菌体破裂以后，胞内的蛋白质、小分子、DNA、RNA 都会释放到胞外，此时需要将核酸充分打断，否则带有强负电性的核酸将和目的蛋白以及杂质相互作用，导致纯化的产物纯度降低，并堵塞纯化填料，降低柱效并影响填料的使用寿命。在超声和均质破菌方法中，物理的剪切力无差别的打断肽聚糖、核酸以及蛋白质，为降低样品粘度，通常要多次超声或者均质。过度的物理作用不仅会造成特定的目的蛋白断裂，导致纯化产物出现降解条带，也会因为热量的作用造成蛋白质的活力丧失。飞刀™ 快速裂菌试剂盒的 B 组分为重组超级核酸酶，它可以快速切断 DNA、RNA 使之降解成 100bp 以下的小片段，同时不会影响目的蛋白的一级序列以及高级结构的完整。因此使用本试剂盒提取蛋白，不会造成目的蛋白的“额外”破坏，是一种温和、快速、高效的破菌方案。

下方图片展示的是超声裂菌和飞刀™ 快速裂菌试剂盒裂菌的纯化对比结果：



超声与酶法裂菌纯化结果对比

产品主要用途：

- 多样本小量 E.coli 细菌的快速裂解，后续可接小量诱导表达的蛋白可溶性检测；
- 多样本中量 E.coli 细菌的快速裂解，后续可接蛋白纯化、性质表征；
- 大量 E.coli 细菌的快速裂解，降低样品粘度，提高规模制备效率以及蛋白纯度；
- 其它革兰氏阴性菌的辅助裂菌。



1.2 产品包装和保存条件

货号	SLR01401	SLR01402	SLR01404
A 液	10 ml	100 ml	1 L
B 液	0.1 ml	1 ml	10 ml

A 液：2-8°C保存，请勿冻结；

B 液：-20°C保存，分装后，4°C 1-2 周短期稳定。

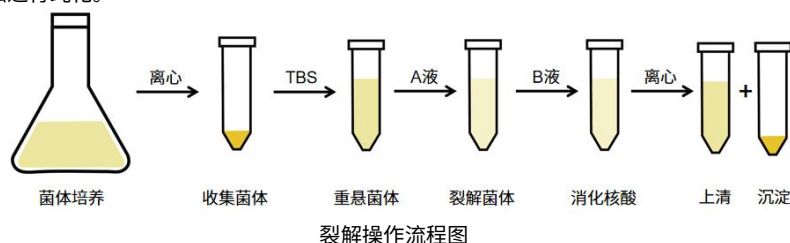
2. 操作步骤

2.1 按照适当方法进行细菌培养、诱导、离心收菌，加入 TBS 缓冲液(1 g 菌体加 10 ml)，震荡完全分散菌体。

2.2 加入 1/10 体积的“飞刀”快速裂菌试剂盒 A 液，例如：一升菌用 27 ml TBS 分散后，加入 3 ml 的 A 液。混合均匀后室温裂解 5-10 min，菌体悬液渐渐变清亮透明。

2.3 加入 1/1000 体积的 B 液。例如：30 ml 已裂解 A 液，加入 30 μl B 液。混合均匀后 4-25°C 消化核酸 5-10 min。

2.4 按照适当方法离心，分离上清与沉淀。如果是可溶蛋白，直接取上清进行纯化，如果是包涵体，则取沉淀，对包涵体进行洗涤以及变性剂溶解，再使用适当方法进行纯化。



3. 补充信息

3.1 因裂解液含有 EDTA，如果目的蛋白带有 His-tag，推荐使用天地人和 Ni Smart Beads/Ni Smart Beads 6FF 进行纯化。GST-tag、Strep-tag II、Fc-tag、S-tag、protein A-tag、CBD-tag、抗体亲和和标签之类的纯化，不受 EDTA 影响。钙调蛋白系统也无法耐受 EDTA，和本试剂不兼容。

3.2 本产品暂不适用于 MBP 标签蛋白的裂解及后续纯化。

3.3 本试剂使用了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都没有常规纯化标签，不会干扰下游纯化。但由于超级核酸酶活力非常高，微量残留可能会干扰下游核酸相关的实验，如用于纯化 Taq 酶、T7 RNA 聚合酶之类蛋白需要考虑减量核酸酶或者精制纯化。

4. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
飞刀™ 快速裂菌试剂盒 CutE.coli Lysis Kit	SLR01401	10 ml+0.1 ml
	SLR01402	100 ml+1 ml
	SLR01404	1 L+10 ml
STarm Streptactin Beads 4FF	SA092005	5 ml
	SA092100	100 ml
Ni Smart Beads	SA035005	5 ml
	SA035100	100 ml
Glutathione Beads	SA008005	5 ml
	SA008100	100 ml
Smart Assembly Cloning Kit	SC00450	50 次
D-Biotin	SLR00602	1 g
BCA Protein Assay Kit	SLR01201	250 次
	SLR01202	1250 次
Bradford Protein Assay Kit	SLR01101	200 次
	SLR01102	1000 次