



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology  
订货热线: 400-1683301或800-8283301  
订货e-mail: order@beyotime.com  
技术咨询: info@beyotime.com  
网址: http://www.beyotime.com

## BeyoLytic™昆虫活性蛋白抽提试剂

产品编号	产品名称	包装
P0013S-100ml	BeyoLytic™昆虫活性蛋白抽提试剂	100ml

### 产品简介:

- 碧云天生产的BeyoLytic™昆虫活性蛋白抽提试剂(BeyoLytic™ Insect Active Protein Extraction Reagent), 也称BeyoLytic™ Insect Native Protein Extraction Reagent, 是一种用于快速、高质量、高产量、高活性提取昆虫细胞如Sf 9和Sf 21等或昆虫组织的细胞浆蛋白、细胞核蛋白以及膜蛋白的昆虫活性蛋白抽提试剂。本产品对于细胞浆的蛋白的抽提效果优于细胞核和细胞膜的蛋白。
- 本产品与Thermo的I-PER® Insect Cell Protein Extraction Reagent (89802)非常相近, 使用效果和用途也非常相近, 很多时候可以考虑相互替代。
- 本产品是一种含有特定的经过精心筛选以确保蛋白抽提效果良好的比较温和的非变性去垢剂(detergent)的缓冲液(含有130mM NaCl, 25mM Tris-Cl, pH7.5), 既确保了蛋白能被高效抽提, 又能确保提取获得的蛋白样品中蛋白或酶的活性能被很好地保留, 便于进行后续的蛋白活性分析检测或进一步的纯化。
- 由于本产品能确保提取的蛋白样品的活性, 所含的去垢剂比较温和, 虽然对于膜蛋白也有很好的抽提效果, 但对于一些难溶性蛋白的抽提效率相对较低。如果希望获得比较高的难溶性蛋白的得率, 建议使用含有强去垢剂的适当抽提试剂。对于使用本产品抽提获得的蛋白溶液, 如果希望去除其中的去垢剂, 可以通过透析或超滤方法去除。
- 本产品能够快速、温和、有效地抽提昆虫细胞或组织的总蛋白, 抽提的蛋白能较好地保持其原有的空间结构和生物学活性, 可用于多种生物化学和细胞生物学用途。例如, 带有His、GST、HA、Flag、Myc、V5等标签蛋白的分离纯化, 免疫印迹(Western blot)、免疫沉淀(Immunoprecipitation)、免疫共沉淀(Co-immunoprecipitation)和ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay)等常规生化分析, luciferase、 $\beta$ -gal、alkaline phosphatase、chloramphenicol acetyltransferase (CAT)等报告基因(Report gene)酶活性检测, PKA、PKC和酪氨酸激酶(tyrosine kinase)等蛋白激酶活力的检测等方面的用途。
- 使用本产品获得的蛋白样品可用碧云天生产的 BCA 蛋白浓度测定试剂盒(P0009/P0010/P0010S/P0011/P0012/P0012S)或Bradford 蛋白浓度测定试剂盒(去垢剂兼容型)(P0006C)进行定量分析。

### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
P0013S-100ml	BeyoLytic™昆虫细胞活性蛋白抽提试剂	100ml
—	说明书	1份

### 保存条件:

4°C保存, 一年有效。室温保存, 至少2周内有效。-20°C可以保存更长时间。

### 注意事项:

- 抽提蛋白样品的所有步骤都宜在冰上或4°C进行, 以保证蛋白的活性。
- 可以根据需要在抽提试剂中添加适当的蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂等。例如总体效果比较理想的 P1045/P1046 蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(通用型, 50X), 或者根据具体用途选择 P1048/P1049 蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(通用型, 质谱兼容, 50X), 或成本比较低的蛋白酶抑制剂 PMSF (100mM) (ST506)。如果无需检测磷酸化蛋白, 也可以选不含磷酸酶抑制剂的蛋白酶抑制剂混合物。
- 可以考虑选购 BeyoZonase™超级核酸酶(D7121/D7126), 并添加到本产品中以降低抽提产物的粘稠度。
- 抽提 His 标签重组蛋白如果后续用于镍柱等的纯化, 通常应避免加入含 EDTA 的试剂。因为 EDTA 会破坏大多数的金属螯合纯化介质(例如 Ni-NTA 纯化介质), 但碧云天生产的 His-tag Purification Resin (耐还原螯合型) (P2210/P2218/P2220/P2226) 可与 EDTA 兼容, 因而在抽提试剂中含有 EDTA 仍然可用于含有 His 标签的蛋白纯化。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 使用说明:

#### 1. 溶液的准备。

- a. 取适量的BeyoLytic™昆虫活性蛋白抽提试剂, 根据具体实验目的加入适量的蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂(例如碧云天生产的P1045/P1046 蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(通用型, 50X)或P1048/P1049 蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(通用型, 质谱兼容, 50X), 也可以根据实验目的选不含磷酸酶抑制剂的蛋白酶抑制剂混合物。放置于冰浴备用。如有必要, 可以考虑

选购BeyoZonase™超级核酸酶(D7121/D7126)，并添加到本产品中使最终浓度为50U/ml以降低抽提产物的粘稠度。

## 2. 悬浮培养昆虫细胞的蛋白抽提。

- 收集细胞：**对细胞进行计数，并确定总的细胞数。800g室温离心5min，弃上清。
- 洗涤细胞(可选做)：**用PBS洗涤细胞，800g室温离心5min，弃上清。如有必要，可以再重复洗涤一次。
- 裂解细胞：**弹击离心管底，使细胞沉淀适当分散开。每 $0.5-2 \times 10^7$ 个细胞加入冰浴预冷的1ml BeyoLytic™昆虫活性蛋白抽提试剂，用移液器吹打混匀，再以中速涡震震荡约5秒后置于冰上孵育10min。如果希望获得更多的蛋白，或者对于一些较难裂解提取的蛋白，则需要额外的孵育时间以提高得率。额外的孵育时间，可能会增加蛋白得率。
- 12,000-16,000g (16,000g更佳) 4°C离心15min。
- 将含有可溶性蛋白的上清转移到新的离心管中，立即用于后续分析检测，或者-20°C或-80°C保存备用。如有必要，可以考虑保留沉淀物用于后续分析。

## 3. 贴壁培养昆虫细胞的蛋白抽提。

- 洗涤细胞(可选做)：**吸除培养液，加入适量PBS，轻轻摇动，吸除PBS重复洗涤一次。如有必要，可以再重复洗涤一次。洗涤过程中应尽量避免贴壁细胞的脱落，如果发生细胞脱落，可以收集相应的培养液或PBS溶液，800g离心5min，以沉淀并收集脱落的细胞。
- 裂解细胞：**吸净细胞培养液或洗涤液，参考表1，加入适量的BeyoLytic™昆虫活性蛋白抽提试剂，冰上孵育10min。冰上孵育期间，可以将培养器皿放置在水平或侧摆摇床上剧烈摇动、敲击细胞培养瓶细胞培养侧的外壁或用细胞刮刮下贴壁细胞。通常直接孵育5-6min后，昆虫细胞会逐渐出现从培养器皿表面脱落的现象。

表1. 不同规格的细胞培养器皿中碧云天BeyoLytic™昆虫活性蛋白抽提试剂的用量表。

Multiple Well Plates or Dishes	Growth area (cm <sup>2</sup> )*	Volume of Extraction Reagent (μl)
10-cm dish	55	500-1000
6-cm dish	21	200-400
6-well plate	9.5	100-200
12-well plate	3.8	50-100
24-well plate	1.9	25-50
48-well plate	0.95	12.5-25
96-well plate	0.32	5-10

- 用移液器将细胞抽提产物吹打悬起并转移到离心管中，12,000-16,000g (16,000g更佳) 4°C离心15min。
- 将含有可溶性蛋白的上清转移到新的离心管中，立即用于后续分析检测，或者-20°C或-80°C保存备用。如有必要，可以考虑保留沉淀物用于后续分析。吸取上清时触及沉淀会导致抽提产物中含有更多的杂蛋白等。

## 常见问题：

### 1. 可溶性蛋白组分目的蛋白非常少。

- 目的蛋白不易溶解，或形成包涵体。用SDS-PAGE上样缓冲液溶解沉淀，用SDS-PAGE和考马斯亮蓝染色或Western blot检测目的蛋白是否在沉淀中。
- 目的蛋白未表达。优化表达条件，核对和检查表达体系。
- 目的蛋白与细胞膜结合在一起。尝试使用能更好抽提昆虫膜蛋白的去垢剂溶解沉淀。

### 2. 目的蛋白降解。

- 样品中含有较高水平蛋白酶。在抽提试剂中添加蛋白酶抑制剂。
- 目的蛋白在室温发生降解。所有裂解和抽提步骤都在冰上或4°C操作。

### 3. 细胞抽提物蛋白浓度太低或太高。

- 根据实际情况，适当调整抽提试剂的使用量。

## 相关产品：

产品编号	产品名称	包装
C3601	细胞线粒体分离试剂盒	50-100次
C3606	组织线粒体分离试剂盒	50-100次
C3702	红细胞裂解液	120ml
D7073	DNase I	200U
D7076	DNase I	1000U
D7121-5KU	BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%)	5KU
D7121-25KU	BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%)	25KU
D7121-100KU	BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%)	100KU
D7121-500KU	BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%)	500KU
D7121-2000KU	BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%)	2000KU

D7126-5KU	BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%, with His-tag)	5KU
D7126-25KU	BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%, with His-tag)	25KU
D7126-100KU	BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%, with His-tag)	100KU
D7126-500KU	BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%, with His-tag)	500KU
D7126-2000KU	BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%, with His-tag)	2000KU
P0006C	Bradford蛋白浓度测定试剂盒	800次
P0009	BCA蛋白浓度测定试剂盒(增强型)	5000次
P0010	BCA蛋白浓度测定试剂盒(增强型)	500次
P0010S	BCA蛋白浓度测定试剂盒(增强型)	200次
P0011	BCA蛋白浓度测定试剂盒	5000次
P0012	BCA蛋白浓度测定试剂盒	500次
P0012S	BCA蛋白浓度测定试剂盒	200次
P0013M-100ml	BeyoLytic™哺乳动物活性蛋白抽提试剂	100ml
P0013Q-100ml	BeyoLytic™细菌活性蛋白抽提试剂	100ml
P0013Q-500ml	BeyoLytic™细菌活性蛋白抽提试剂	500ml
P0013S-100ml	BeyoLytic™昆虫活性蛋白抽提试剂	100ml
P0013	Western及IP细胞裂解液	100ml
P0013B	RIPA裂解液(强)	100ml
P0013C	RIPA裂解液(中)	100ml
P0013D	RIPA裂解液(弱)	100ml
P0013E	RIPA裂解液(强中弱套装)	共150ml
P0013F	NP-40裂解液	100ml
P0013G	SDS裂解液	100ml
P0013J	Western及IP细胞裂解液(无抑制剂)	100ml
P0013K	RIPA裂解液(强, 无抑制剂)	100ml
P0027	细胞核蛋白与细胞浆蛋白抽提试剂盒	50次
P0028	细胞核蛋白与细胞浆蛋白抽提试剂盒	100次
P0033	细胞膜蛋白与细胞浆蛋白提取试剂盒	100次
P1005	蛋白酶抑制剂混合物(通用型, 100X)	1ml
P1006	蛋白酶抑制剂混合物(通用型, 100X)	5ml
P1008	蛋白酶抑制剂混合物(通用型, 质谱兼容, 50X)	1ml
P1009	蛋白酶抑制剂混合物(通用型, 质谱兼容, 50X)	5ml
P1010	蛋白酶抑制剂混合物(哺乳动物样品抽提用, 100X)	1ml
P1011	蛋白酶抑制剂混合物(哺乳动物样品抽提用, 100X)	5ml
P1015	蛋白酶抑制剂混合物(植物样品抽提用, 100X)	1ml
P1016	蛋白酶抑制剂混合物(植物样品抽提用, 100X)	5ml
P1020	蛋白酶抑制剂混合物(真菌或酵母抽提用, 100X)	1ml
P1021	蛋白酶抑制剂混合物(真菌或酵母抽提用, 100X)	5ml
P1025	蛋白酶抑制剂混合物(细菌抽提用, 100X)	1ml
P1026	蛋白酶抑制剂混合物(细菌抽提用, 100X)	5ml
P1030	蛋白酶抑制剂混合物(His-Tag蛋白纯化用, 100X)	1ml
P1031	蛋白酶抑制剂混合物(His-Tag蛋白纯化用, 100X)	5ml
P1045	蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(通用型, 50X)	各2ml
P1046	蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(通用型, 50X)	各10ml
P1048	蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(通用型, 质谱兼容, 50X)	各1ml
P1049	蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(通用型, 质谱兼容, 50X)	各5ml
P1050	蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(哺乳动物样品抽提用, 50X)	各2ml
P1051	蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(哺乳动物样品抽提用, 50X)	各10ml
P1055	蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(植物样品抽提用, 50X)	各2ml
P1056	蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(植物样品抽提用, 50X)	各10ml
P1060	蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(真菌或酵母抽提用, 50X)	各2ml
P1061	蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(真菌或酵母抽提用, 50X)	各10ml

P1065	蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(细菌抽提用, 50X)	各2ml
P1066	蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(细菌抽提用, 50X)	各10ml
P2210	BeyoGold™ His-tag Purification Resin(耐还原螯合型)	10ml
P2210FT	BeyoGold™ His-tag Purification Resin(耐还原螯合型) (试用装)	2ml
P2220	BeyoGold™ His-tag Purification Resin(耐还原螯合型)	1000ml
P2226	His标签蛋白纯化试剂盒(耐还原螯合型)	10ml
S3090	细胞与组织裂解液(一氧化氮检测用)	100ml
ST206	Lysozyme/溶菌酶(>20KU/mg)	0.5g
ST506	PMSF (100mM)	10ml

Version 2021.08.04