



# BugBuster 法制样

BugBuster 是一种可以温和破坏大肠杆菌细胞壁并释放活性蛋白的细胞裂解液, 其能够在蛋白不变性的情况下完成细胞壁穿孔, 用于表达的蛋白质不溶的情况下进行后续纯化。本 Protocol 为实验室传代 Protocol

1. 根据蛋白量使用不同菌量进行制样, 小蛋白(50-70kDa 左右)用 **600  $\mu$ L 菌液** 制样, 大蛋白(100kDa 及以上)使用 **2 mL 菌液** 制样(取菌液前用枪吹吸混匀)
2. 30s、13200 rpm 离心集菌, 2 mL 菌液分两次集在同一 1.5 mL 管中如果实验组对照组菌量明显不一致, 实验组可补加一些菌液进行二次集菌
3. 去净上清, 将沉淀(菌体)放到干冰上或-80°C冰箱中冻住(菌体完全发白即可)
4. 按照菌液的 1:20 计算 **BugBuster Buffer** (小蛋白每管 30  $\mu$ L, 大蛋白每管 100  $\mu$ L), 提前分装出稍多的 BugBuster Buffer 并按 1:1000 加入 **Benzonase** (-20°C冰箱 一抗盒子 左上角)
5. 往每个冻住的样品里加 30  $\mu$ L/100  $\mu$ L BugBuster Buffer, 吹吸悬菌(发现 15  $\mu$ L 小枪加两次不容易起泡), 室温低速 Roter, 20 min, 每隔 5 min 更换方向并混匀菌体
6. 10min、13200rpm 离心分离沉淀和上清, 将上清全部转移到新了 1.5ml 管 (标记为上清), 1:1 加入 Smaple Buffer 混匀
7. 沉淀先用 30  $\mu$ L PBS 溶解悬浮, 再 1:1 加入 Smaple Buffer(可以用枪轻戳)
8. 95°C、5min 煮样, 煮完后可 13200 rpm、5 min 离心后立即上样  
煮完后也可短离然后保存在-20°C冰箱, 上样前再次 5min、95°C煮样, 13200rpm、5min 离心

修订日期 2024-04-23