

## EasyLys-M 哺乳动物组织/细胞活性蛋白提取试剂使用说明书

### 【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
ES-6220	EasyLys-M Mammalian Native Protein Extraction Reagent	100mL
	使用说明书	1 份

### 【保存条件】

4°C保存，有效期 12 个月

### 【概述】

EasyLys-M 是一款高效、温和的哺乳动物细胞及组织全蛋白抽提试剂。本品采用优化的非变性去垢剂配方，旨在快速获取具有生物学活性的胞浆、胞核及膜蛋白。

**对标性能：**本品在裂解效率与活性保留方面与 M-PER® (Thermo) 及 CellLytic™ M (Sigma) 具有高度一致性，可直接替代。

**应用广泛：**提取的蛋白处于天然构象，直接兼容报告基因检测（荧光素酶、β-半乳糖苷酶）、蛋白激酶分析（PKA、PKC）、免疫检测（WB、ELISA）及免疫共沉淀（Co-IP）。

### 【产品特点】

- **兼容性强：**抽提的可溶性蛋白处于非变性状态，可直接用于免疫沉淀反应和其他亲和纯化过程
- **作用温和：**温和的除垢剂裂解，产生的抽提物直接与考马斯(Bradford)和 BCA 蛋白定量分析试剂或 SDS-PAGE 兼容
- **非变性：**维持荧光素酶、β-半乳糖苷酶、CAT 和其他报告基因的活性，与其他供应商的产品和冷冻/解冻方法一样好或更出色
- **操作简单：**贴壁细胞直接在板上裂解或者在剥离和洗涤后悬浮于溶液中

### 【使用前准备】

1. **预冷：**使用前确保 EasyLys-M 试剂处于冰浴状态。
2. **添加抑制剂（核心）：**临用前，向裂解液中加入适量蛋白酶抑制剂（如 ES-8315）；若研究磷酸化蛋白，必须补加磷酸酶抑制剂（如 ES-8317）。

### 【使用建议】

1. **样品前处理（具体用量参考表 1）：**

**贴壁细胞:**

- ① 弃去培养基，用 PBS 洗涤一遍以去除血清蛋白。
- ② 加入预冷裂解液（如 6 孔板每孔加入 100-200 $\mu$ L）。

**悬浮细胞:**

- ① 500 $\times$ g 离心 5 分钟收集细胞，弃去培养基，用 PBS 洗涤一遍以去除血清蛋白。
- ② 按比例加入裂解液，通过手指弹击或轻微涡旋重悬细胞沉淀。

**组织样本:**

- ① 将组织剪成约 2mm<sup>3</sup> 的细碎块。
- ② 按每 20mg 组织（组织应去除各类结缔组织、血管等，无血液洁净状态）加入 200-400 $\mu$ L 裂解液的比例混合。
- ③ 使用玻璃匀浆器或电动匀浆设备彻底匀浆，直至无肉眼可见组织块。

**2. 裂解与离心:**

- ① **孵育:** 将混合物置于冰上或 4 $^{\circ}$ C 摇床振荡孵育 5-10 min（组织样本可延长至 20 min）。
- ② **离心:** 4 $^{\circ}$ C 下，14000 $\times$ g 离心 10 min。
- ③ **收集:** 立即将含有活性蛋白的上清液转移至预冷的离心管中。

表 1. 不同规格的细胞培养器皿中 EasyLys-M 哺乳动物活性蛋白提取试剂的用量表。

细胞孔板或培养皿	面积 (cm <sup>2</sup> )	提取试剂用量
100mm	55	500-1000 $\mu$ L
60mm	21	200-400 $\mu$ L
6-well plate	9.5	100-200 $\mu$ L/孔
24-well plate	1.9	25-50 $\mu$ L/孔
96-well plate	0.32	5-10 $\mu$ L/孔

**【注意事项】**

1. **蛋白产量低:** 若由于裂解不全或样本过载导致产量低，应适当增加裂解液比例或延长匀浆/冰上孵育时间。
2. **蛋白降解或失活:** 必须确保全程在冰上操作，并确认已足量添加未失效的蛋白酶/磷酸酶抑制剂。
3. **样本保存建议:** 提取后的蛋白应立即分装并冻存于 -80 $^{\circ}$ C，严禁反复冻融以防止蛋白变性或失活。
4. **安全防护与用途:** 操作时请佩戴实验服及手套；本品仅限科研使用，严禁用于临床诊断、食品或药品。