

EasyLys-I 昆虫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-6225	EasyLys-I Insect Cell 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】

EasyLys-I 专为昆虫细胞及组织设计，采用温和的非变性去垢剂配方，能够在不破坏蛋白空间结构的前提下，快速、高效地抽提总蛋白。

广泛兼容：提取的蛋白可直接用于 His/GST/Flag 等标签蛋白纯化、WB、IP/Co-IP、ELISA，以及报告基因（Luciferase、 β -gal）和蛋白激酶（PKA、PKC）的活性检测。

适用样本：完美适配常用的昆虫细胞系（如 Sf9, Sf21, High Five 等）及其感染杆状病毒后的重组蛋白表达体系。

【使用前准备】

- 1. 预冷：**使用前确保 EasyLys-I 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）。

【操作方法】

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 μ L），将培养板置于摇床上剧烈摇动，或手动敲击侧壁。通常 5-6 min 后细胞会逐渐脱落。

悬浮细胞：

- ① 500-800 \times g 离心 5min 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（每 0.5-2 \times 10⁷ 个细胞加入 1mL 裂解液），通过手指弹击或轻微涡旋重悬细胞沉淀。

2. 裂解与离心:

- ① **孵育:** 将混合物置于冰上或 4°C 摇床振荡孵育 10-15 min。
- ② **离心:** 4°C 下, 14000×g 离心 10-15min。
- 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-1 昆虫活性蛋白提取试剂的用量表。

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