



磷酸化蛋白提取试剂盒

货号: BC3730

规格: 50T /100T

有效期: 至少 1 年。

产品组成:

名称	50T	100T	Storage
裂解液	50mL	100 mL	2-8 °C
磷酸酶抑制剂 (100×)	0.5mL	1mL	-20°C
蛋白酶抑制剂 (100×)	0.5mL	1mL	
PMSF (100×)	0.5mL	1mL	

产品说明:

本试剂盒用于哺乳动物组织和细胞中提取胞质蛋白, 试剂盒中的裂解液含有蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂, 作用较为强烈, 可获得总蛋白, 可用于免疫印迹实验等基础研究实验, 由于含有上述的酶抑制剂, 不能用于研究蛋白激酶和磷酸激酶的研究。本品仅用于科研。

操作方法 (仅供参考):

在 1mL 的冷裂解液中各加入 10μL 的磷酸酶抑制剂、蛋白酶抑制剂和 PMSF; 混匀, 放置在冰上备用;

1、组织总蛋白的提取

- 1) 称取 0.1g 的新鲜组织, 放置于玻璃匀浆器的入口缓冲处, 用眼科剪将组织块尽可能的剪碎, 然后加入 0.5-1mL 的新配置的裂解液, 研磨直至没有明显的组织块, 这个过程注意冰上操作;
- 2) 将组织匀浆液移入 1.5mL 的 EP 管中, 4 °C 12000g 离心 30min;
- 3) 吸取上清至新的管中;
- 4) 进行蛋白定量或者变性进行蛋白实验。

(提取好的蛋白建议保存于-80°C, 即用即取, 避免反复冻融, 避免长时间储存。)

2、细胞总蛋白的提取

- 1) 裂解液的用量: 10⁷ 个细胞需要裂解液 1mL;
- 2) 贴壁细胞: 弃去培养基, 用冷的 PBS 洗两次, 弃去 PBS, 然后加入计算好的细胞裂解液; 在冰上用细胞刮刀进行刮离细胞, 将刮离的细胞裂解液移入 EP 管中, 颠倒裂解 20-30min。
- 3) 悬浮细胞: 4°C 400g 离心收集细胞, 用冷的 PBS 洗两次细胞, 同样按细胞数加入裂解液, 涡旋 10s, 放置冰上裂解 10min, 重复 3-4 次;
- 4) 裂解完毕之后, 将细胞裂解液 4 °C 12000g 离心 30min;
- 5) 将上清移入新的 EP 管中; 进行蛋白定量或者变性进行蛋白实验。

(提取好的蛋白建议保存于-80°C, 即用即取, 避免反复冻融, 避免长时间储存。)

注意事项:

1. 实验过程, 所有试剂都要需要预冷或者即融, 保证操作过程中的低温环境。
2. PSMF (有毒) 现用现加, 因为 PMSF 在水溶液中会快速降解。