

# 磷酸化蛋白提取试剂盒

## Phosphoprotein Extraction Kit

Cat.No.MPP8754

Size : 50 tests &amp; 100 tests

Technical literature is available at: [www.mesgenbio.com](http://www.mesgenbio.com).E-mail MesGen Technical Services if you have questions on use of this system: [tech@mesgenbio.com](mailto:tech@mesgenbio.com)

### 产品简介

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。

### 产品组成

	50 tests	100 tests
Cell Lysis Buffer	50ml	100ml
Protease inhibitor A	0.5ml	1ml
Protease inhibitor B	0.5ml	1ml
PMSF	0.5ml	1ml

### 操作方法

#### 1、组织总蛋白的提取

- 1) 在1ml的预冷Cell Lysis Buffer中各加入10ul Protease inhibitor A、Protease inhibitor B和PMSF；混匀，放置在冰上备用；
- 2) 称取0.1g的新鲜组织，放置于玻璃匀浆器的入口缓冲处，用剪刀将组织块尽可能的剪碎，然后加入0.5-1ml的新配置的Cell Lysis Buffer（含三种蛋白酶抑制剂），研磨直至没有明显的组织块，这个过程注意冰上操作；
- 3) 将组织匀浆液移入1.5ml 的离心管中，4℃ 12000g 离心30min；
- 4) 吸取上清至新的离心管中；
- 5) 进行蛋白定量或者变性进行蛋白实验。

备注：提取好的蛋白建议保存于-80℃，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：1×10<sup>7</sup>个细胞需要Cell Lysis Buffer 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Cell Lysis Buffer；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离心管中，颠倒裂解20-30min。
- 3) 悬浮细胞：4℃ 400g 离心收集细胞，用冷的PBS 洗两次细胞，同样按细胞数加入Cell Lysis Buffer，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℃ 12000g 离心30min；
- 5) 将上清移入新离心管中；进行蛋白定量或者变性进行蛋白实验。

备注：提取好的蛋白建议保存于-80℃，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。

### 保存条件

Cell Lysis Buffer置于2-8℃

Protease inhibitor A / B 、PMSF置于-20℃

**产品仅供科学研究 禁止用于临床诊断**