



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

[http:// www.real-times.com.cn](http://www.real-times.com.cn)

E-mail: real-times@vip.163.com

磷酸酶抑制剂混合物（100×）

Ver.760577-1.0

货号	名称	规格
PC1830-01	磷酸酶抑制剂混合物（100×）	1 ml
PC1830-02		5×1 ml

● 贮存、运输及效期：

-20℃保存；湿冰运输；有效期一年。

注：本产品为水系溶液，不含 EDTA，长期存放可能会出现微量晶体状沉淀，此为正常现象，常温彻底溶化后混匀使用，不会影响实验结果。

● 产品简介：

磷酸酶抑制剂混合物（100×）(Phosphatase inhibitor cocktail, 100×)是一种用于动物细胞或组织、真菌、细菌以及植物等蛋白提取及其它相关用途的磷酸酶抑制剂混合物，含 Sodium fluoride, Sodium orthovanadate, Sodium pyrophosphate 和 β -Glycerophosphate Sodium 等多种磷酸酶抑制剂，可广泛抑制蛋白提取物中的酸性、碱性、丝氨酸/苏氨酸和酪氨酸磷酸酶(acid, alkaline, Ser/Thr and Tyr phosphatases)活性，保持蛋白原有的磷酸化状态。其中各种组份抑制磷酸酶的种类如下：Sodium fluoride 是酸性磷酸酶可逆抑制剂； β -glycerophosphate 和 Sodium pyrophosphate 是丝氨酸/苏氨酸磷酸酶可逆抑制剂；Sodium orthovanadate 是碱性磷酸酶和酪氨酸磷酸酶可逆抑制剂。

本产品使用便捷，通常以 1:100 的比例把磷酸酶抑制剂混合物加入裂解液中即可用于样品蛋白的提取，并有效抑制蛋白的去磷酸化。

一个包装的本产品通常足够用于 100 ml 的裂解液的配制。

● 使用方法：

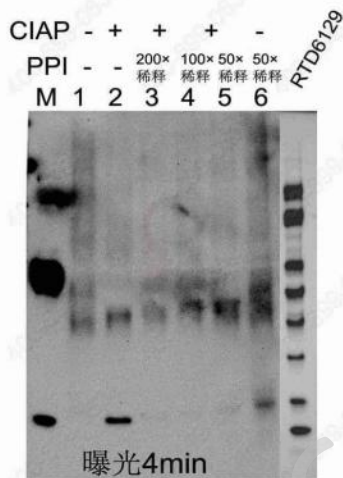
1. 使用前常温溶解磷酸酶抑制剂混合物（100×），混匀，按照 1: 100 比例加入到组织细胞裂解物中，如 1 ml 裂解物中加入 10 μ l 抑制剂混合物。磷酸酶含量特别丰富的组织，可以适当提高加入量，使其终浓度为 2-3×。

注：含有磷酸酶抑制剂混合物的裂解液宜现用现配，不宜配制后冻存待后续使用。根据需要，可以同时考虑添加适当的蛋白酶抑制剂混合物。

2. 待所需的抑制剂添加完毕并混匀后，即可开始进行样品的裂解和蛋白提取。

● 实验示例：

1. 酪蛋白脱磷酸化处理 PST 检测



样品：酪蛋白钠盐（CR1030） 20mg/ml 水溶液；

样品脱磷酸化处理：55 μl 酶解体系含 100 μg 蛋白，加 50U CIAP（5 μl），不同浓度 PPI，水补齐到 50 μl，加 5 μl 10×CIAP buffer，37 度 60min 处理，加 25 μl 4×变性还原上样缓冲液，20 μl 水，70 度 10min，此时上样液 1 μg/μl，上样 10 μl/10 μg；

样品 1：原始磷酸化信号-不加 CIAP，不加 PPI；样品 2：脱磷酸化 CK-加 CIAP，不加 PPI；

样品 3，4，5：加不同浓度 PPI，加 CIAP，3-加 PPI 按照 200×稀释；4-加 PPI 按照 100×稀释；5-加 PPI 按照 50×稀释；样品 6：PPI 是否影响信号：不加 CIAP，PPI 按照 50×稀释；

凝胶：4-15%RealPAGE Tris-Glycine 预制胶（RTD6119-0415-15，1×TGS 200 V 41 min；

转膜：0.45 μm PVDF 膜，e-blot 仪器转膜，700mA 15min；

封闭：3%BSA（WB1070）RT 封闭 1 小时；

一抗：PST（Anti-Phospho-Serine/Threonine Rabbit mAb）1:1000(通用型抗体稀释液，WU1090 稀释)四度过夜；

二抗：羊抗兔 IgG-HRP（HGR1020，1×TBST）1：5000 RT 一小时；

检测：RealECL 发光液（EC2520）曝光 4 min

结果：

CIAP 可显著去除酪蛋白的 Ser/Thr 磷酸化，PST 抗体检测具有磷酸化依赖性；

PPI 对 CIAP 具有一定抑制作用，并呈现一定的浓度依赖趋势；

PPI 本身不会影响 PST 抗体对磷酸化 Ser/Thr 位点的识别。