

1. 产品描述

蛋白磷酸化是重要的共价翻译后修饰,可以改变蛋白质的结构构象,并调控靶蛋白的功能,位置和特异性结合。许多细胞过程受蛋白质的可逆磷酸化调控,30%的蛋白质可能在其存在过程中被磷酸化。

由于内源性蛋白的产生和降解处于平衡状态,因此在稳定的环境条件下其细胞水平是稳定的。细胞粗提取物含有许多内源性酶,例如磷酸酶和蛋白酶,其能够降解和改变提取物中的蛋白。提高完整蛋白产量的最佳方法是加入这些酶的抑制剂。

更多的抑制剂意味着更好的磷酸化保护。我们提供两管具有不同溶液形式的抑制剂,帮助您更好地抑制磷酸酶。管 A (即 Phosphatase Inhibitor Cocktail 1, 货号 K1012) 抑制碱性磷酸酶的 L-同功酶和丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶,例如蛋白磷酸酶 1 和 2A (PP1 和 PP2A)。管 A 含有 Cantharidin、Bromotetramisole 和 Microcystin LR,以 DMSO 的即用溶液提供。管 B(即 Phosphatase Inhibitor Cocktail 2, 货号 K1013) 抑制酪氨酸蛋白磷酸酶,酸性磷酸酶和碱性磷酸酶。管 B 含有 Sodium orthovanadate、Sodium molybdate、Sodium tartrate、Imidazole 和 Sodium Fluoride,以 ddH₂O 的即用溶液提供。

2. 产品组分

管号	组分	靶点
A (100X in DMSO)	Cantharidin	Ser/Thr phosphatases
	(-)-p-Bromotetramisole Oxalate	Alkaline phosphatases
	Microcystin-LR	Chromatin/Epigenetics Protein Ser/Thr Phosphatases
B (100X in ddH ₂ O)	Sodium orthovanadate	Alkaline phosphatases, PTPs, ATPases
	Sodium molybdate	Acid and phosphoprotein phosphatases
	Sodium tartrate	Acid phosphatases
	Imidazole	Alkaline phosphatases
	Sodium fluoride	Acid phosphatases

3. 储存条件

-20°C 条件下储存,稳定 12 个月以上。

4. 试验操作

在室温下解冻,然后在实验前以 1:100 (v/v) 稀释至溶液样品(如细胞裂解物或组织提取物),依次加入 A 管和 B 管:加 A 管,混匀;再加 B 管,混匀(不可将 A 管和 B 管混合后再一起加入)。

Phosphatase Inhibitor Cocktail (2 Tubes, 100X)可用于 Western Blot, Co-IP, pull-down, IF, IHC, kinase assay 等实验。

5. 问题解答

1) Q: 可否将A、B两管产品混合后再加入裂解液中?

A: 将A管和B管预先混合会形成浅绿色的沉淀，该沉淀主要是析出的盐类，沉淀会同时影响A管的盐类和B管的天然化合物。这些沉淀无法完全重新溶解。因此需要避免这种混合方式，而是按照说明书分别加入两管产品。

2) Q: Western Blot实验时磷酸化蛋白和非磷酸化蛋白的条带都非常弱应该怎么解决?

A: 首先保证蛋白上样量足够;其次,需要同时加入蛋白酶抑制剂Cocktail(如货号K1007)和磷酸酶抑制剂Cocktail(如货号K1015)来保护蛋白不被降解。

3) Q: 为什么A管的融化时间比B管的长?

A: 因为A管的溶剂是DMSO, B管的溶剂是ddH₂O, 相比之下DMSO融化的速度更慢, 特别是在低温条件下。可采用在25°C水浴中融化, 亦可将A管分装成多个小管。