

## 溶液内酶解\_8M 尿素提取蛋白

1. 取待酶解的蛋白溶液，加入 DTT(终浓度 10mM)，56 度 1h。
2. 冷却至室温，加入 IAA (终浓度 50mM) 避光 40min，期间可震荡涡旋。
3. 用 50mM 碳酸氢铵稀释蛋白溶液至少 5 倍(将 8M 尿素稀释到 1.6M 以下)。
4. 加入胰蛋白酶 (蛋白量：胰蛋白酶=1：100)，37 度酶解 4h。
5. 再次加入胰蛋白酶 37 度酶解 8h。
6. 加入质谱级甲酸 (终浓度 1%) 终止酶解。
7. 14,000g 离心 15min，弃沉淀。
8. 上清旋干。
9. 脱盐。(建议用脱盐柱进行脱盐处理，要保证样品中不带有盐)