

微量蛋白沉淀剂

Mini-Scale Protein Concentration Reagent

使用手册 V1.1

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

产品及特点	本产品用于微量沉淀浓缩蛋白质样品，其原理是通过酸使蛋白质变性，溶解度降低，在离心条件下沉淀，而达到蛋白变性、蛋白浓缩、蛋白去盐的目的。他们还有一个重要的用途是去除污染的盐离子和其他小分子。本系列产品名单如下：					
	产品编号		产品名称		最低浓度	备注
	81217A		TCA 蛋白沉淀浓缩试剂		5ug/mL	最常用酸沉淀法
	81217B		TCA-DOC 蛋白沉淀浓缩试剂		1ug/mL	样品不得含 SDS
	它们具有下列特点：					
	1. 操作方便迅速，只需要混匀后离心，不需要其他仪器。 2. 产品稳定，可室温长期放置。 3. 可以处理各种液体样品（如细胞或细菌培养物，细胞裂解物，蛋白质提取物等等）。 4. 浓缩效果强，可浓缩浓度低达 1ug/mL 的蛋白。 5. 可用于含 SDS 的样品，但灵敏度稍低（5 ug/mL）。 6. 得到的蛋白质可用于后续的 SDS-PAGE、免疫沉淀和质谱分析等实验。但蛋白已经变性，没有活性。					
规格及成分		成份	编号	50 次包装		
		溶液 A	81217A	0.5mL		
		溶液 B	81217B	1 mL		
		溶液 C	81217C	50 mL		
		使用手册	81217sc	1 份		
运输及保存	常温运输和保存，有效期一年。					
自备试剂	1M Tris-HCl, pH8.8（也许会用到）					
使用方法	使用方法一（用于不含 SDS 的样品，但样品蛋白浓度不能低于 1 ug/mL） 1、 将 100 μL 需要沉淀浓缩的蛋白样品转移到一个自备的 1.5 mL 塑料离心管中。 2、 加入 10 μL 溶液 A，涡旋激烈震荡 10-30 秒混匀。 3、 冰上放置 15 分钟。 4、 加入 10 μL 溶液 B，轻轻混匀。 5、 冰上放置 60 分钟。 6、 4℃12000-15000×g 离心 10 分钟。 7、 小心移弃上清液，保留蛋白沉淀。 8、 加入 1 mL 冰浴的溶液 C，震荡混匀后 4℃12000-15000×g 离心 15 分钟。					

	9、小心移弃上清液，保留蛋白沉淀。 10、短暂离心，小心移弃残留上清液后，将有蛋白沉淀的离心管敞开放置在冰上，空气晾干。一般需要 10 分钟左右。 11、样品放 4℃保存或立即电泳检测。可直接用 1×SDS-PAGE 上样液或其他电泳缓冲液溶解蛋白沉淀，取适量上样。如果蓝色的溴酚蓝染料变黄，则说明有残留酸性物质 TCA 污染，必须加少量自备的 1M Tris-HCl (pH8.8) 缓冲液，直到颜色变成蓝色为止，否则将影响电泳结果。 使用方法二（用于含 SDS 的样品，但样品蛋白浓度不能低于 5 ug/mL） 1、将 200 μL 需要沉淀浓缩的蛋白样品（浓度不低于 5ug/mL）转移到一个自备的 1.5 mL 塑料离心管中。 2、加入 8 μL 溶液 B，涡旋激烈震荡 10-30 秒混匀。 3、冰上放置 30 分钟或-20℃放置 15 分钟（过夜放置更好）。 4、4℃ 12000-15000×g 离心 15 分钟。 5、小心移弃上清液，保留蛋白沉淀。 6、加入 1 mL 冰浴的溶液 C，震荡混匀后 4℃ 12000-15000×g 离心 15 分钟。 7、小心移弃上清液，保留蛋白沉淀。 8、短暂离心，小心移弃残留上清液后，将有蛋白沉淀的离心管敞开放置在冰上，空气晾干。一般需要 10 分钟左右。 9、样品放 4℃保存或立即电泳检测。可直接用 1×SDS-PAGE 上样液或其他电泳缓冲液溶解蛋白沉淀，取适量上样。如果蓝色的溴酚蓝染料变黄，则说明有残留酸性物质 TCA 污染，必须加少量自备的 1M Tris-HCl (pH8.8) 缓冲液，直到颜色变成蓝色为止，否则将影响电泳结果。
技术资料	TCA 与蛋白质 TCA 与蛋白质之间主要有以下几个方面的作用:①在酸性条件下与蛋白质形成不溶性盐.②作为蛋白质变性剂使蛋白质构象发生改变，暴露出较多的疏水性基团，使之聚集沉淀.③随着蛋白质分子量的增大，其结构复杂性与致密性越大，TCA 可能渗入分子内部而使之较难被完全除去，在电泳前样品加热处理时可能使蛋白质结构发生酸水解而形成碎片，而且随时间的延长这一作用愈加明显.④电泳图谱显示，BSA，HSA 单体谱带有较明显的展宽现象，这可能是由于 TCA 的结合，使 SDS 与蛋白质的结合量产生偏差，从而造成蛋白质所带电荷的不均一性，造成迁移率的不一致.我们认为在电泳时使用 TCA 对蛋白质样品的浓缩或除盐时，对于分子质量大的蛋白质，要慎重选择 TCA.对小分子量蛋白质的浓缩，采用 TCA 时也有两点