

蛋白
研究
系列

CAT#:121208-50
常温运输和保存

TIANDZ

液体样品蛋白纯化回收试剂盒

Liquid Sample Protein Purification Kit

使用手册 V1.0

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

<p>产品及特点</p>	<p>本产品专门用于对液体样品进行蛋白提取浓缩、脱盐、脱去垢剂、脱还原剂等。</p> <p>本产品具有下列特点：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 适用于各种液体样品，包括蛋白溶液、胞浆提取液、胞核提取液、细胞或微生物培养基上清液、血液、尿液、脑脊液等。也适于原代或传代细胞悬液。 2. 灵敏，对一般蛋白样品，最低浓度可达 1ug/mL；对含 SDS 的样品，最低浓度为 5 ug/mL。 3. 蛋白回收率 95-100%，远高于经典的丙酮或三氯醋酸沉淀法，且可有效去除样品中的脂质，不影响后续 SDS-PAGE 和 Western Blot 等生物实验 4. 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。 5. 能有效去除液体样品中的盐(1M)、还原剂(1%巯基乙醇或 DTT)、去垢剂(5%SDS、1% Triton X-100、1% NP-40)和油脂等。 6. 操作方便迅速，只需要混匀后离心，不需要其他仪器。 7. 产品稳定，可室温长期放置。 			
<p>规格及成分</p>		<p>成份</p>	<p>编号</p>	<p>50 次小纸盒包装</p>
		溶液 A	121208A	0.5mL
		溶液 B	121208B	1 mL
		溶液 C	121208C	50 mL
		使用手册	121208sc	1 份
<p>运输及保存</p>	<p>常温运输和保存，有效期一年。</p>			
<p>自备试剂</p>	<p>1M Tris-HCl, pH8.8 (也许会用到)</p>			
<p>使用方法</p>	<p>使用方法一（用于不含 SDS 的液体样品，但样品蛋白浓度不能低于 1 ug/mL）</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、 将 100 μL 需要液体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$^{\circ}$C 12000-15000\timesg 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$^{\circ}$C 12000-15000\timesg 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 的液体蛋白样品，但样品蛋白浓度不能低于 5 ug/mL）

- 1、将 200 μL 液体蛋白样品转移到一个自备的 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 时也有两点需要注意:一是用 TCA 沉淀后，尽量用丙酮彻底抽提 TCA;二是样品处理后要尽快进行电泳分析，以免发生聚集及断裂，造成结果分析的不准确.