

Minute™ 高效蛋白沉淀试剂盒

目录号：WA-006

描述：

蛋白质沉淀是浓缩蛋白质和去除蛋白质样品中干扰物质(如盐、脂类和其他可能干扰下游应用的成分)的一种明确策略。在广泛使用的技术中，三氯乙酸(TCA)沉淀法是一种简单有效的方法。然而，通过 TCA 方法沉淀的蛋白质通常会发生变性，且会导致蛋白复溶时溶解度降低。

传统 TCA/丙酮沉淀方法的主要缺点是相较蛋白质浓度较高的样品，处理蛋白浓度低的样品效率很低。针对传统方法的这些局限性，我们创新了一种高效的蛋白沉淀试剂盒，是传统 TCA 方法的改良方法。该试剂盒的特点是更加简单，快速和更加有效。它能够在 30 分钟内有效沉淀和浓缩低浓度的蛋白质。

主要特点：

与同类产品相比，简化、快速且操作友好。每一步都可以在室温下进行，增加了便利性。特别有利于沉淀低浓度蛋白质样品。

试剂盒组分：

- | | |
|---------|------|
| 1 蛋白沉淀液 | 30ml |
| 2 溶液 P | 6ml |
| 3 清洗液 | 30ml |

运输和储存： 常温运输，室温储存。

操作方法：

1. 将需要沉淀的蛋白质溶液加到 1.5ml 或者 2.0ml 的离心管中，1.5ml 和 2.0ml 离心管可加入蛋白溶液的最大处理体积分别是 0.7ml 和 1.0ml。更大体积的离心管也可以使用，但是离心机需要有相应套筒。
2. 向蛋白质样品中加入相等体积的蛋白沉淀液（例如，样品体积为 0.5ml，则向试管中加入 0.5ml 蛋白沉淀溶液），然后加入溶液 P（**注意：如果下游实验涉及质谱检测，为了避免干扰请勿添加溶液 P**）。溶液 P

的加入量为总体积的 1/10 添加（例如，如果蛋白样品体积和蛋白沉淀剂体积合起来是 1.0ml，则加入 100ul 溶液 P），涡旋震荡 10-20 秒充分混匀，室温孵育 5-10 分钟（**也可选择在冰上孵育**）。

3. 台式离心机最高离心力（大约 14,000-16,000Xg）离心 10 分钟。将上清液完全倒出，再加入 0.5ml 的清洗液到管中（**清洗液按照起始样品量 1:1 添加，此处假设起始蛋白样品体积为 0.5ml**），反复倒置管子几次混匀。
4. 台式离心机最高离心力（大约 14,000-16,000Xg）离心 5 分钟，小心将上清液完全弃去，将管子开盖在室温倒置几分钟（沉淀为蛋白质）。如需要可以按上述步骤重复清洗一次。蛋白质沉淀可用含有表面活性剂的溶液（例如 0.5% SDS 用于 SDS-PAGE 或 2D 专用缓冲液用于 2D 检测）重悬成为蛋白溶液。蛋白浓度推荐使用 BCA 试剂盒测定。

注意：沉淀的蛋白可能会变性和失去生物活性。

技术提示：

向沉淀混合物中加入溶液 P 后，出现白色沉淀是正常现象。沉淀过程中形成的蛋白质沉淀必须溶解在含有去污剂的缓冲液中，用于后续分析。如果沉淀难以溶解，请考虑尝试以下方法：

- 1.通过上下移液，将沉淀重悬于含有 0.8% SDS 和 20 mM DTT 的 PBS 中，根据沉淀大小将体积调节至 50-100 μ l。将样品煮沸 2-3 分钟。
- 2.离心机 10,000 X g 离心 2-3 分钟，收集上清液用于分析。大部分蛋白质应溶解，尽管离心后仍可能可见残留的白色沉淀。这主要归因于溶液 P 中的非蛋白质沉淀载体。
- 3.或者将沉淀重悬于 50-100 μ l 1X SDS-PAGE 上样缓冲液中，加热溶液，10,000 X g 离心，收集上清液进行分析。

更多信息和活动请扫描
二维码关注官方公众号

