天净沙系列

CAT#:221010

常温运输和保存

液体样品蛋白纯化回收试剂盒

Liquid Sample Protein Purification Kit

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

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。本产品具有下列特点：

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 1 μg/mL；对含 SDS 的样品，最低浓度为 5 μg/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（1 M)、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。
8. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用小扁盒包装

成分	编号	规格	包装
溶液 A	221010A	0.5 mL	0.5 mL 本色管
溶液 B	221010B	1 mL	5 mL 棕玻瓶
溶液 C	221010C	50 mL	60 mL 本色瓶
使用手册	221010sc	1 份	1 份

运输及保存

常温运输和保存，有效期一年。

自备物品

1 M Tris-HCl，pH 8.8

使用方法

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 μg/mL）

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℃ 12,000-15,000×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℃ 12,000-15,000×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污染，必须加少量自备的 1 M Tris-HCl（pH 8.8）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 μg/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℃ 12,000-15,000×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℃ 12,000-15,000×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 1 M Tris-HCl（pH 8.8）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。
关联产品	动植物总蛋白微量提取试剂盒

20230829ysm-dx