

TCA 蛋白浓缩试剂盒

TCA Protein Precipitation Kit

产品组分:

产品名称	规格	保存温度
试剂 A--沉淀剂	10ml	RT
试剂 B--洗涤液	30ml	RT
试剂 C--助沉淀剂	5ml	RT
试剂 D--中和液	250ul	RT
1M NaCl	1ml	RT
5×SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液（变性，还原）	1ML	-20℃
40mM 碳酸钠	1ml	RT

产品简介:

试剂盒原理：在酸性条件下，三氯醋酸（Trichloroacetic acid, TCA）与蛋白质形成不溶性盐，使蛋白质变性导致构象发生改变，蛋白暴露出较多的疏水性基团，蛋白发生聚集而沉淀。为了避免 TCA 对后续电泳的影响，沉淀的蛋白要使用洗涤液彻底清洗去除 TCA。浓缩后的蛋白可以用于 SDS-PAGE 和 Western blot 前的蛋白样品处理。

操作方法:

1---准备 1.5ml 干净的离心管，加入 800ul 蛋白样品溶液。

可选：如果样品溶液中离子强度低于 10mM,补加 8ul 的 1M NaCl 溶液。若低于 800ul 的样品，加入 8ul 1M NaCl,用水补齐体积至 800ul，使 NaCl 终浓度为 10mM.

2---加入 80ul 试剂 C-助沉淀剂，混匀，常温静置 15min。

3---加入步骤 2 溶液 1/8 体积的试剂 A -110 μl，补加 1/8 体积水 110ul，涡旋震荡 10-30 秒，使之充分混匀。

4--冰浴放置 15min。

5--4℃，12000 rpm（13000 g）离心 10 分钟。注：离心后白色蛋白沉淀弥散性可见于离心管管壁上。

6--小心去掉上清液，保留沉淀。

注：请小心操作，可以用移液器辅助彻底吸弃上清。

7--沉淀中加入 600 μl 试剂 B，涡旋震荡 10-30 秒，彻底混匀。



注：试剂 B 有刺激性气味，请在通风橱内操作。

8--冰浴 15min。

9--4℃，12000 rpm（13000 g）离心 10 分钟，在通风橱中，倒掉上清。残留上清用 10 μl 吸头彻底吸弃，沉淀物通风晾干 30-60 秒。注：沉淀不能过分干燥，否则将导致蛋白不好溶解。

10--蛋白溶解：

根据下表选择溶解缓冲液

下游实验	溶解缓冲液
SDS-PAGE 电泳	1×SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液（变性，还原）。 注：加入溶解缓冲液后，彻底溶解沉淀（37℃温浴处理），溶液正常颜色应为蓝色；如果溶液为淡绿色或黄色，加入 1/10 体积中和液 D，使颜色变回蓝色。 95℃ 处理 5 分钟，电泳上样
BCA 蛋白定量	40mM 碳酸钠 pH11.25
等电聚焦 IEF/2D 电泳	7M 尿素，2M 硫脲，40mM Tris，1%C ₇ B ₂ O 或 1% ASB-14 pH10.4
酶切实验	100 mM 碳酸氢铵 pH8.5

保存温度：

试剂盒常温运输；收到后，按照标签温度贮存；本试剂盒有效期 1 年

