



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// www.real-tims.com.cn

E-mail: real-times@163.com

PAGE 胶蛋白微量回收试剂盒 (货号: RTD8108)

Ver730379

● 试剂盒组成:

| 组份货号 | 试剂盒组成 | 规格 | 贮存 |
|------------|--------------|--------|---------------------|
| RTD8108-01 | 溶液 A-洗脱液 | 10 ml | 4-8℃ |
| RTD8108-02 | 溶液 B-助沉液 | 5 ml | 4-8℃ |
| RTD8108-03 | 溶液 C-沉淀液 | 10 ml | 4-8℃ |
| DT0140P-01 | 1 M DTT (粉末) | 1 ml | 4-8℃ 配制溶液后-20℃贮存 |
| CF-20 | 过滤柱 | 20 套/包 | RT |
| YMC07-5 | 塑料研磨杵 | 5 个/包 | RT |
| | 说明书 | 1 份 | |

● 运输、储存条件和效期:

常温运输, 标签温度保存, 有效期为一年。

● 产品简介及使用说明:

蛋白电泳不仅可用于检测蛋白质的相对分子质量, 而且也是分离纯化蛋白质的重要工具之一, 随着蛋白质技术的微量化, 有必要从凝胶中回收蛋白质以用于制备抗体、免疫印迹、氨基酸组分分析或末端序列测定等, 本产品就是专门为此用途开发的微量蛋白胶回收法, 回收效率在 50-80%。

按照每次使用 400 μ l 溶液 A 计算, 试剂盒至少可以使用 20 次。

● 使用方法:

1. 电泳:

按常规方法进行变性 (SDS-PAGE) 或非变性蛋白电泳 (Native-PAGE)。

2. 切胶:

2.1 用手术刀片将铜染 (货号: RTD6207) 或锌染 (货号: RTD6206) 的胶块中含有目的条带的部分胶切下 (尽可能地把多余的胶切除, 否则会影响回收效率), 放入 1.5 ml 的离心管中, 用相应的消除液将胶中蛋白质条带脱色到胶体接近无色透明, 超纯水漂洗凝胶两次, 保留胶体进行步骤 3。

2.2 由于考马斯亮蓝染色蛋白的特殊性, 不建议考染后进行切胶操作。建议把样品分多孔上样, 电泳后只切其中一个胶孔的胶条进行染色, 然后将此胶条放回到在整体胶中原来的位置, 通过显色胶条上的蛋白条带找到在未染色胶上对应区域, 并切下胶体进行步骤 3。

2.3 如不进行染色, 可以使用预染 Marker 判断目的蛋白的位置进行切胶进行步骤 3。但此方法缺点在于蛋白的位置难以精确判断。

3. 研磨处理:

3.1 称取 1.5 ml 离心管中胶块重量; 用研磨杵充分将胶块压磨成尽可能细小的碎片。

3.2 即用型溶液 A 配制:

根据溶液 A 的使用量配制即用型溶液 A 的体积。配制比例为: 1 ml 溶液 A 加入 10 μ l 1 M DTT 溶液。

3.3 根据胶块重量加入即用型溶液 A，用研磨杵再次充分研磨，4℃摇床慢摇洗脱过夜（12-16 小时）。

注：胶块重量和即用型溶液 A 体积大体按照 1:4 比例加入，如胶块 100 mg 加入 400 μ l 即用型溶液 A，溶液 A 使用量宁多勿少。洗脱时间与凝胶浓度，蛋白分子量大小有关，胶浓度越高，分子量越大，洗脱时间越长。

4. 过滤除胶：

用 1 ml 的去尖吸头吸取混合物至过滤柱中（过滤柱放入收集管中），注意将碎胶一起吸入，溶液过多时可分次加入，12,000 rpm 离心 2 分钟，保留收集管中的滤出液（包含蛋白）。

5. 蛋白沉淀：

5.1 将滤出液转移到 1.5 ml 离心管中，加入 1/10 体积的溶液 B-助沉液，混匀，常温放置 15 min。

5.2 加入步骤 5.1 溶液 1/4 体积的溶液 C-沉淀液，充分混匀后，冰浴 15 min。

注：加入溶液 C 后溶液变浑浊，需要彻底充分混匀。

5.3 4℃ 12,000 rpm 离心 10 分钟，去除上清，保留蛋白沉淀。

注：由于溶液 B-助沉液的作用，此步骤得到管底很明显的蛋白沉淀物。

6. 蛋白漂洗：

6.1 蛋白沉淀中加入 1 ml 预冷的丙酮（自备，试剂盒不提供），彻底重悬沉淀，混匀，冰浴放置 15 min。

6.2 4℃ 12,000 rpm 离心 10 分钟，去除上清，保留沉淀。

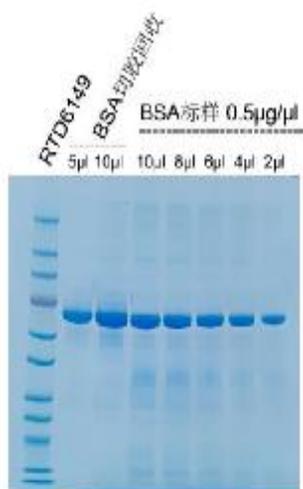
注：通过丙酮的漂洗，去除步骤 5.3 中蛋白沉淀中的非蛋白组份。

6.3 离心管快甩离心，用 10 μ l 吸头将离心管中残余溶液彻底吸净，常温开口风干 1-2 分钟，待残留的液体挥发干净。

7. 蛋白贮存：

选用合适的缓冲液溶解沉淀的蛋白质，以方便进行后续的电泳和质谱测序等实验。

8. 实验示例：



使用 BSA 电泳后切胶回收，回收率在 90% 以上