

All methods work well. Whenever possible, use acetone ppt., because this method removes detergent best and proteins are dissolved best at the end.

1. Quantitative Proteinfällung mit TCA (Trichloressigsäure)

10% TCA in A.bidest ; eiskalt Schutzbrille !!!!

- Proteinlösung (1-10 µg/µl) in Laemmli-Probenpuffer 10-15 min bei 95°C kochen, abkühlen lassen.
- 1 Volumen zur Proteinlösung hinzugeben
- 5 min auf Eis inkubieren
- 5 min abzentrifugieren bei 14.000 rpm, 4°C
- Überstand vorsichtig abkippen
- Pellet mit eiskaltem EtOH absolut 2 x waschen (Salz entfernen)
- EtOH vollständig verdampfen lassen (z.B. 50°C im Heizblock bei geöffnetem Deckel)
- Pellet in SDS-Probenpuffer aufnehmen

2. Acetonfällung von Proteinen

1. Proteinlösung (1-10 µg/µl) in Laemmli-Probenpuffer 10-15 min bei 95°C kochen, abkühlen lassen.
2. 5 min. bei 14 000 rpm (RT) zentrifugieren, Überstand in neues Eppendorf-Gefäß überführen.
3. 9 Teile Aceton zugeben, mit Mikrospatel (Metall) sehr gut aufwirbeln.
4. Mindestens 1 h bei -20°C inkubieren, 10 min. wie zuvor (4°C) zentrifugieren. Überstand entfernen.
5. 0.5 ml 80 % Aceton (-20°C) zugeben und gründlich mit Mikrospatel aufwirbeln. Wie zuvor zentrifugieren. 1 x wiederholen, gründlich aufwirbeln.
6. Sediment mit 0.5 ml absolutem Aceton (-20°C) versetzen, aufwirbeln und wieder zentrifugieren.
7. An der Luft völlig trocknen lassen.

8. Protein in Laemmli oder 2D-Gel-Probenpuffer resuspendieren.

Anmerkung: Manche Proteine sind in Aceton löslich und können verlorengehen. Ggf. Überstände aufbewahren. Aceton kann durch Verdunsten leicht entfernt werden.

3. Proteinfällung mit Methanol/Chloroform

- Add 3 volumes of methanol and 1 volume of chloroform to the sample and vortex
- Add 3 volumes of H₂O, vortex for 1 min
- Centrifuge for 5 min at 6.000 – 10.000 g and discard the upper phase
- Add 3 volumes of methanol and vortex
- Centrifuge for 5 min at 6.000 – 10.000 g
- Remove the supernatant and let pellet air dry
- Resuspend the dry pellet in buffer