



SDS-PAGE 蛋白加样缓冲液(5×,含 DTT)

简介:

蛋白上样缓冲液主要由 TRIS、SDS、溴酚蓝、还原剂等组成。SDS 可与蛋白质结合使蛋白质-SDS 复合物上带有大量的负电荷, 这使蛋白质本身的电荷完全被 SDS 掩盖, 消除了各种蛋白质本身电荷的差异; SDS 还可以断开分子内和分子间的氢键, 破坏蛋白质分子的二级结构和三级结构。还原剂可以断开半胱氨酸残基之间的二硫键, 破坏蛋白质结构, 消除了蛋白结构之间的差异, 最终无电荷及结构上差异的蛋白(亚单位), 电泳速度只是与其分子量大小有关。溴酚蓝作为电泳指示剂, 可大概指示电泳结束的时间。

SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(5×,含 DTT)即 SDS-PAGE Sample Loading Buffer(5×,with DTT), 是一种经过改良的以溴酚蓝为染料的 5 倍浓缩的蛋白上样缓冲液。

本产品含少量 DTT, 但不含有毒物质β-巯基乙醇, 使蛋白上样操作相对安全健康。该试剂仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

组成:

名称	编号	R21154			Storage
SDS-PAGE Sample Loading Buffer(5×)	1ml	5×1ml	10ml	-20℃	
说明书	一份				

操作步骤(仅供参考):

1、在室温或不超过 37℃的水浴中溶解 SDS-PAGE 蛋白加样缓冲液(5×,含 DTT), 水浴溶解后立即室温存放, 尽量避免长时间置于水浴中。使用完毕后应置于-20℃保存。

2、取适量的蛋白样品和 SDS-PAGE Sample Loading Buffer(5×)按 4:1 混



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

合, 充分混匀。如 40 μ l 蛋白样品加入 10 μ l 上样缓冲液 (5 倍稀释) 来使用。如果蛋白样品浓度过高, 可用双蒸水稀释。

3、95°C 水浴加热 5~10min, 以充分变性蛋白。

4、冷却到室温后, 经 10000~14000rpm 离心 2~5min, 取上清直接上样电泳。

5、通常电泳至蓝色染料到达 PAGE 胶的底部附近即可停止。

注意事项:

1、SDS-PAGE Sample Loading Buffer(5 \times) 中含少量 DTT, 有轻微刺激性气味。

2、SDS-PAGE Sample Loading Buffer(5 \times) 必须完全溶解后再使用。建议根据使用量和频率分装冻存, 应避免反复冻融。

3、本产品用于蛋白变性时, 建议 95°C 水浴或 PCR 仪加热 5 分钟, 温度过高(如 100°C) 或时间过长(如超过 15 分钟), 有可能会 导致蛋白降解或上样缓冲液中指示剂的颜色异常。

4、本产品含有溴酚蓝指示剂, pH 受温度影响, 颜色可能有所不同; 低温冻存条件下, 呈深棕色~深蓝色凝固状态, 不影响正常使用。

5、本产品稀释至 1X 后可以直接用于细胞或组织样品的裂解。

6、加热前通常会发现蛋白样品内有粘稠的半透明状物体, 通常在本上样缓冲液内 95°C 水浴加热 8~10 分钟后可使该粘稠的半透明状物体消失, 便于后续的上样操作。如果起始时细胞或组织的用量较大, 基因组 DNA 含量较高, 加热 5~10 分钟后有可能仍然比较粘稠或者有粘稠状的半透明物体, 此时需要再加热 5-10 分钟或者加入适量 1X 的蛋白上样缓冲液后再加热 3~5 分钟。充分加热后一方面可以使结合在基因组 DNA 上的蛋白充分释放, 同时会导致基因组 DNA 的部分断裂从而使粘稠感消失, 这样就不会影响后续的上样操作了。适当超声或使用 1ml 注射器反复抽吸也可以打断基因组 DNA 从而使粘稠感消失。

7、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期: -20°C 保存, 12 个月有效; 亦可 4°C 短期保存。