

SDS-PAGE 蛋白加样缓冲液(5×,含 DTT)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

产品简介：

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。

产品组成：

产品名称	规格	保存条件	说明书	有效期
SDS-PAGE 蛋白加样缓冲液(5×,含 DTT)	1ml/5×1ml/10ml	20℃	1 份	1 年
SDS-PAGE Sample Loading Buffer(5×)	1ml/5×1ml/10ml	20℃	1 份	1 年

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 混合，充分混匀。如 40 μl 蛋白样品加入 10 μl 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℃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×)中含少量 DTT，有轻微刺激性气味。
- 2、SDS-PAGE Sample Loading Buffer(5×)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。

相关产品：

Tris-HCl 缓冲液(1.5mol_L, pH8.8)
Tris-HCl 缓冲液(0.5mol_L, pH6.8)
Tricine-SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒
TEA-Tricine-SDS 电泳缓冲液(20×, pH8.3)
TEA-Tricine-SDS 电泳粉剂(1×)
SDS-PAGE 下层胶预混液(6%)