

SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液 (1X, 无气味)

产品详情

目录号	KWB017
产品规格	10ml
保存方法	-20°C 一年

产品简介

SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(1X, 无气味), 是一种经过改良的更加安全健康的无气味的以溴酚蓝为染料的蛋白上样缓冲液。本上样缓冲液含有稳定性更好, 还原效果更优, 没有难闻的气味的 TCEP 作为还原剂, 代替传统的 DTT 或 2-ME。TCEP 是一种非常有效的硫醇类还原剂, 广泛用作蛋白质化学及蛋白质组学研究中二硫键的定量还原剂。用于常规的 SDS-PAGE 蛋白样品的上样。

本产品可以直接用于细胞或组织样品的裂解, 并用于后续常规的 SDS-PAGE 蛋白样品的上样。使用 SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(1X, 无气味)直接裂解蛋白样品的优点是比较便捷; 缺点是裂解好的蛋白样品不能用常规的 Bradford 法或 BCA 法测定蛋白浓度。这样蛋白上样量的均一性就较难控制, 需要借助考马斯亮蓝等的染色结果或 Western 的检测结果, 来调整上样量。当细胞量或组织用量能控制得比较均一时, 使用本裂解液直接裂解获取蛋白样品会比较便捷。

使用说明:

- 1、在室温或不超过 37°C 的水浴中溶解 SDS-PAGE 上样缓冲液(1X,无气味)。水浴溶解后立即室温存放, 尽量避免长时间置于水浴中。使用完毕后置于-20°C 保存。
- 2、**对于贴壁细胞:** 去除培养液, 用 PBS、生理盐水或无血清培养液洗一遍(如果血清中的蛋白没有干扰, 可以不洗)。按照 6 孔板每孔加入 150-250 微升 SDS-PAGE 上样缓冲液(1X, 无气味)的比例加入裂解液。用枪吹打数下, 使 SDS-PAGE 上样缓冲液(1X, 无气味)和细胞充分接触。通常 SDS-PAGE 上样缓冲液(1X, 无气味)接触细胞 1-2 秒后, 细胞就会被裂解。裂解后的样品收集到一洁净离心管内。
- 3、**对于悬浮细胞:** 离心收集细胞, 用手指把细胞用力弹散。按照 6 孔板每孔细胞加入 150-250 微升 SDS-PAGE 上样缓冲液(1X, 无气味)的比例加入 SDS-PAGE 上样缓冲液(1X, 无气味)。再用手指轻弹以充分裂解细胞。充分裂解后应没有明显的细胞沉淀。如果细胞量较多, 必需分装成 50-100 万细胞/管, 然后再进行裂解。
- 4、**对于组织样品:**
 - a.把组织剪切成细小的碎片。
 - b.按照每 20 毫克组织加入 150-250 微升 SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(1X, 无气味)的比例加入 SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(1X, 无气味)。注: (如果裂解不充分可以适当添加更

多的 SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(1X, 无气味), 如果需要高浓度的蛋白样品, 可以适当减少 SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(1X, 无气味)的用量。)

c.用玻璃匀浆器匀浆, 直至充分裂解。

d.充分裂解后, 将样品收集到一洁净离心管内。

注: (如果组织样品本身非常细小, 可以适当剪切后直接加入裂解液裂解, 通过强烈 vortex 使样品裂解充分。直接裂解的优点是比较方便, 不必使用匀浆器, 缺点是不如使用匀浆器那样裂解得比较充分。)

5、95°C 水浴加热 5-10 分钟, 以充分变性蛋白。

注: (①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 度水浴加热 8-10 分钟后可以使该粘稠的半透明状物体消失, 以便于后续的上样操作。请务必 95°C 加热, 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。②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。)

6、冷却到室温后, 室温稍离心一下, 这样可以可能没有溶解的杂质沉淀在管底等, 上清即可直接上样到 SDS-PAGE 胶加样孔内即可。通常电泳至蓝色染料到达胶的底端处附近即可停止电泳。

注意事项:

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操。