

5×蛋白上样缓冲液(含 DTT/ β -me)使用说明书

储存条件: -20°C保存, 有效期 24 个月。

产品内容:

| Components | SL1170 & SL1180 |
|--------------------------|-----------------|
| 5×蛋白上样缓冲液(含 DTT) | 5×1 mL/10mL |
| 5×蛋白上样缓冲液(含 β -ME) | 5×1mL/10mL |
| 说明书 | 1 份 |

产品说明:

5×SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液 (还原)是以溴酚蓝为染料, 5 倍浓缩的 SDS-PAGE 凝胶电泳上样缓冲液, 应用于还原型 SDS-PAGE 的蛋白样品制备和上样。

5×蛋白上样缓冲液分别含有 DTT 和 β -ME, 可使蛋白质分子的链内二硫键和链间二硫键断裂, 通过二硫键连接的各蛋白亚单位彼此分离, 经考马斯亮蓝染色以后在电泳凝胶上显现清晰蛋白条带。

β -巯基乙醇和 DTT 都是还原剂, 防止蛋白质被氧化, β -巯基乙醇常用浓度为 5-20MMOL/L, DTT 为 0.5-1MMOL/L。因为 β -巯基乙醇加入缓冲液后 24 小时易被氧化, 其后加速蛋白质的失活, 而 DTT 氧化后形成稳定的分子内二硫键, 并不危及蛋白的巯基, 所以在蛋白制备中常用 β -巯基乙醇, 而长期储存用 DTT。

含 DTT 和 β -ME 冻存的上样液电泳使用区别不明显, 除了 β -ME 气味较大之外。

使用方法:

1. 将 5×SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液 (还原)与蛋白样品按照 1: 4 的比例混匀。
(加样前在室温或 37-40°C数分钟解冻后轻轻摇匀, 以确保溶液混合均匀。)
2. 将蛋白样品置于 95°C中加热 3-5 分钟。
3. 待蛋白样品充分变性后冷却至室温, 以小于 3000 rpm 的条件离心 30 秒。
4. 离心后, 以微量进样器取适量上清, 直接加入 SDS-PAGE 凝胶加样孔内。
5. 进行常规电泳, 通常染料到达距离凝胶底端 0.5-1 cm 处即可停止电泳。