

SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(1×)

产品货号: T15285

产品规格: 10ml

产品简介:

SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(SDS-PAGE Sample Loading Buffer,1×),是一种经过改良的以溴酚蓝为染料的蛋白上样缓冲液。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(1×)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。本产品也可以用于SDS-PAGE时待上样蛋白样品的稀释等。

产品组成

名称	规格	保存条件
SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(1×)	10ml	-20℃

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上样缓冲液(1×)。水浴溶解后立即室温存放,尽量避免长时间置于水浴中。
- 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(1×)的比例加入裂解液。用枪吹打数下,使 SDS-PAGE上样缓冲液(1X)和细胸充分接触。通常SDS-PAGE上样绣冲液(1×)接触细朐12秒后,细胞就会被 裂解。裂解后的样品收到一洁净离心管内。
- 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(1×)的比例加入SDS-PAGE上样缓冲液(1×)。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(1×)的比例加入SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(1×)。(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(1×),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(1×)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。
 - 说明:如果组织样品本身非常细小,可以适当前切后直接加入裂解液裂解,通过强列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. 100℃或沸水浴加热5-10分钟,以充分变性蛋白。说明:煮沸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沸水浴者沸8-10分钟后可以确保该粘稠的半透明状物体消失,以便干后续的上样操作。
- 6. 冷却到室温后,室温稍离心一下以沉淀可能出现的杂质等,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. SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(1×)中含少量DTT,有轻微刺激性气味,但不含剧毒的巯基乙醇。
- 2. SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(1×)必须完全溶解后再使用。
- 3. 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: 12个月有效。