

5×SDS-PAGE 双色蛋白上样缓冲液 (DTT) 使用说明书

【包装规格】

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|---------|--|-----------------|
| ED-8522 | SDS-PAGE Dual Color Protein Loading Buffer, 5×(with DTT) | 10ml/1ml × 10 管 |
| | 使用说明书 | 1 份 |

【保存条件】

-20℃ 保存，有效期 1 年

【概述】

5×SDS-PAGE 双色蛋白上样缓冲液可保护蛋白质在样品制备步骤中免受热降解，并在 SDS-PAGE 运行期间防止 pH 值变化。一些蛋白质对在 Tris 缓冲液中电泳期间温度波动引起的 pH 变化敏感，优化后的上样缓冲液组分可防止在 SDS-PAGE 电泳之前的样品加热过程中以及电泳过程中蛋白质降解。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，这时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和三级结构。DTT 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。

上样缓冲液包含两种跟踪染料：蓝色（溴酚蓝），用于跟踪电泳的进度；粉红色（pyronin Y），用于在 Western 印迹过程中监测蛋白质向膜的转移。

【使用建议】

1. 室温或 37℃ 水浴解冻 5×SDS-PAGE 双色蛋白上样缓冲液，并摇晃混匀。
2. 请按每 40μl 蛋白样品加入 10μl 上样缓冲液的比例(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. 混匀后，100℃ 水浴加热 5-10 分钟，使蛋白变性。
4. 冷却至室温后，10000-14000rpm 离心 2-5 分钟（离心为了减少可能产生的沉淀，若无沉淀可不离心直接上样），取上清直接上样电泳即可。

【效果图】**【注意事项】**

1. DTT 对人体有害，操作时请小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
2. 该产品于-20℃保存时会出现 SDS 沉淀，使用前请确保溶液完全复溶混匀，必要时可置于 37℃水浴促溶。
3. 蛋白上样缓冲液含有溴酚蓝、吡罗红指示剂，PH 值受保存温度影响，在低温冻存状态下，溶液可能会呈现深棕色，不影响产品使用。
4. 聚丙烯酰胺凝胶浓度为 8%时溴酚蓝指示条带的位置大概在 30kd 左右，胶浓度为 12%时约在 20kd 左右，胶浓度为 15%时大概在 10kd。请根据自己目标条带来判断结果电泳时间。
5. 一般而言，派洛宁 Y 的迁移速度快于溴酚蓝。在较高百分比的 SDS 聚丙烯酰胺凝胶（例如 15%）中，派洛宁 Y 染料的迁移速度比溴酚蓝慢。