

SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液 1X(变性还原)

产品货号: AR0198

产品批号: 见外包装标签

产品规格: 10ml

产品保存: -20℃ 保存, 一年有效

产品说明: SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(SDS-PAGE Sample Loading Buffer, 1X), 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(1X)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。

注意事项:

1. SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(1X)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(1X)必须完全溶解后再使用。

使用说明:

1. 在室温或不超过 37℃ 的水浴中溶解 SDS-PAGE 上样缓冲液(1X)。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(1X)的比例加入裂解液。用枪吹打数下, 使 SDS-PAGE 上样缓冲液(1X)和细胞充分接触。通常 SDS-PAGE 上样缓冲液(1X)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)的比例加入 SDS-PAGE 上样缓冲液(1X)。再用手轻弹以充分

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) 的比例加入 SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液 (1X)。(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)，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) 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. 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煮沸 8-10 分钟后可以确保该粘稠的半透明状物体消失，以便于后续的上样操作。

注意：如果起始时细胞或组织的用量较大，基因组 DNA 含量较高，煮沸 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。此时需要再煮沸 5-10 分钟或者加入适量 1X 的蛋白上样缓冲液后再煮沸 3-5 分钟。充分煮沸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。

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。