



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// www.real-times.com.cn

E-mail: real-times@vip.163.com

SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(1×) SDS-PAGE Protein Loading Buffer (1×)

产品编号	产品名称	包装	贮存
PL115	SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(1×)	10 ml	-20℃
-	说明书	一份	

● 产品简介:

SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(SDS-PAGE Protein 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。使用该产品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蛋白定量方法测定蛋白浓度。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。

本缓冲液已经含有还原剂DTT, 有轻微刺激性气味。

● 保存条件:

-20℃保存, 开封后有效期1年。

● 使用方法:

1. 在常温或不超过37℃的水浴中溶解SDS-PAGE上样缓冲液(1×)。水浴溶解后立即常温存放, 尽量避免长时间置于水浴中。
2. 细胞样品:
 - 2.1 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。按照6孔板每孔(细胞数量~ 2.5×10^6)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(1×)和细胞充分接触。通常SDS-PAGE上样缓冲液(1×)接触细胞1-2秒后, 细胞就会被裂解。裂解后的样品收集到1.5 ml离心管内。
 - 2.2 对于悬浮细胞: 450 g 4℃离心5分钟收集细胞, 弃上清, 用手指把细胞用力弹散。按照6孔板(细胞数量~ 2.5×10^6)每孔细胞加入150-250微升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。
3. 组织样品:
 - 3.1 把组织剪切成细小的碎片。
 - 3.2 按照每20毫克组织加入150-250微升SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(1×)的比例加入缓冲液。
注: 如果裂解不充分可以适当添加更多的上样缓冲液, 如果需要高浓度的蛋白样品, 可以适当减少上样缓冲液的用量。
 - 3.3 用玻璃匀浆器匀浆或者用27#针头抽打5-10次, 直至充分裂解。
 - 3.4 充分裂解后, 将样品收集到1.5 ml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，通过强烈涡旋震荡使样品裂解充分。直接裂解的优点是比较方便，缺点是不如使用匀浆器那样裂解得比较充分。

4. 95-100℃加热10分钟，以充分变性蛋白。

注：加热前通常会发现蛋白样品内有粘稠的半透明状物体，通常在上样缓冲液内加热8-10分钟后该粘稠的半透明状物体消失。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10分钟或者补加适量1×的蛋白上样缓冲液后再煮沸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。

5. 样品冷却到常温后，12000 rpm离心2分钟，上清即可直接上样到SDS-PAGE凝胶加样孔内。通常电泳至蓝色染料到达胶的底端处附近即可停止电泳。