

SDS-PAGE 蛋白加样缓冲液(2×,含 TCEP)

简介:

蛋白上样缓冲液主要由 TRIS、SDS、溴酚蓝、还原剂等组成。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,这使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结构和三级结构。还原剂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。溴酚蓝作为电泳指示剂,可大概指示电泳结束的时间。

源叶生物 SDS-PAGE 蛋白加样缓冲液(2×,含 TCEP)即 SDS-PAGE Sample Loading Buffer(2×,with TCEP),是一种经过改良的更加安全、更加健康的无气味的以溴酚蓝为染料,2 倍浓缩的蛋白上样缓冲液。

本产品使用了无气味、水溶性更稳定、还原能力相近的还原剂[三(2-羧乙基)膦盐酸盐,TCEP]替代了有气味的 D-二硫苏糖醇(DTT)或 β-巯基乙醇(2-Mercaptoethanol),从而可以确保本 SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液在正常使用或加热时都不会有异味,使蛋白上样操作更加安全健康。该试剂仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

组成:

SDS-PAGE 蛋白加样缓冲液(2×,含 TCEP) 1ml/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 蛋白加样缓冲液(2×,含 TCEP),水浴溶解后立即室温存放,尽量避免长时间置于水浴中。使用完毕后应置于-20℃ 保存。

2. 取适量的蛋白样品和 SDS-PAGE Sample Loading Buffer(2×)等比例混合,

充分混匀。如 40ul 蛋白样品加入 40ul 上样缓冲液(2 倍稀释)来使用。如果蛋白样品浓度过高, 可用双蒸水稀释。

3. 95℃水浴加热 5~10min, 以充分变性蛋白。
4. 冷却到室温后, 经 10000~14000rpm 离心 2~5min, 取上清直接上样电泳。
5. 通常电泳至蓝色染料到达胶的底部附近即可停止电泳。

注意事项:

1. 本产品用于蛋白变性时, 建议 95℃水浴或 PCR 仪加热 5 分钟, 温度过高(如 100℃或时间过长(如超过 15 分钟), 有可能会造成蛋白降解或上样缓冲液中指示剂的颜色异常。

2. SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(2×, 含 TCEP)中不含剧毒的巯基乙醇和有刺激性气味的 DTT, 但还原效果一致, 对于蛋白样品的处理效果和电泳效果一致。

3. SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(2×, 含 TCEP)必须完全溶解后再使用。建议根据使用量和频率分装冻存, 应避免反复冻融。

4. 本产品含有溴酚蓝指示剂, pH 受温度影响, 颜色可能有所不同;低温冻存条件下, 呈深棕色~深蓝色凝固状态, 不影响正常使用。

5. 本产品稀释至 1×后可以直接用于细胞或组织样品的裂解。

6. 加热前通常会发现蛋白样品内有粘稠的半透明状物体, 通常在本上样缓冲液内 95℃水浴加热 8~10 分钟后可使该粘稠的半透明状物体消失, 便于后续的上样操作。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 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, 此时需要再加热 5-10 分钟或者加入适量 1×的蛋白上样缓冲液后再加热 3~5 分钟。充分加热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。适当超声或使用 1ml 注射器反复抽吸也可以打断基因组 DNA 从而使粘稠感消失。

7. 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。