**5×蛋白上样缓冲液(含β-ME)说明书**

**产品编号：**RC21156

**储存条件：**-20℃保存，有效期 1 年。

|  |  |
| --- | --- |
| Components | RC21156 |
| 5×蛋白上样缓冲液(含 DTT) | 5×1 mL/10mL |
| 5×蛋白上样缓冲液(含β-ME) | 5×1 mL/10mL |
| 说明书 | 1份 |

**产品说明：**

5×SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液 (还原)是以溴酚蓝为染料，5 倍浓缩的 SDS-PAGE 凝胶电泳上样缓冲液， 应用于还原型 SDS-PAGE 的蛋白样品制备和上样。

5×蛋白上样缓冲液分别含有 DTT 和β-ME，可使蛋白质分子的链内二硫键和链间二硫键断裂，通过二 硫键连接的各蛋白亚单位彼此分离，经考马斯亮蓝染色以后在电泳凝胶上显现清晰蛋白条带。

β-巯基乙醇和 DTT 都是还原剂，防止蛋白质被氧化，β-巯基乙醇常用浓度为 5-20MMOL/L，DTT 为 0.5-1MMOL/L。因为β-巯基乙醇加入缓冲液后 24 小时易被氧化，其后加速蛋白质的失活，而 DTT 氧化后 形成稳定的分子内二硫健，并不危及蛋白的巯基，所以在蛋白制备中常用β-巯基乙醇，而长期储存用 DTT。

含 DTT 和β-ME 冻存的上样液电泳使用区别不明显，除了β-ME 气味较大之外。

**使用方法：**

1. 将 5×SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液 (还原)与蛋白样品按照 1：4 的比例混匀。

**(加样前在室温或 37-40℃数分钟解冻后轻轻摇匀，以确保溶液混合均匀。)**

1. 将蛋白样品置于 95℃中加热 3-5 分钟。
2. 待蛋白样品充分变性后冷却至室温，以小于 3000 rpm 的条件离心 30 秒。
3. 离心后，以微量进样器取适量上清，直接加入 SDS-PAGE 凝胶加样孔内。

5．进行常规电泳，通常染料到达距离凝胶底端 0.5-1 cm 处即可停止电泳。