

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) | 1ml×10 管/10ml |
| | 使用说明书 | 1 份 |

【保存条件】

-20℃ 保存，有效期 12 个月

【概述】

本产品为 5 倍浓缩的蛋白电泳专用上样缓冲液，含有高纯度 SDS 和强还原剂 DTT，旨在彻底消除蛋白质间的结构与电荷差异，保护蛋白质免受热降解，并维持电泳过程中的 pH 环境稳定。

● 变性机制:

1. **SDS (十二烷基硫酸钠):** 破坏蛋白二级、三级结构，使其带上高密度负电荷，消除电荷差异。
2. **DTT (二硫苏糖醇):** 有效还原并断开蛋白质分子内及分子间的二硫键，实现亚单位的彻底分离。

● 双色追踪系统:

1. **蓝色 (溴酚蓝, Bromophenol Blue):** 常规电泳指示前沿，用于追踪样品运行位置。
2. **粉红色 (派洛宁 Y, Pyronin Y):** 具有更快的迁移特性，特别适用于监测 Western Blot 转膜过程中蛋白质向膜 (NC/PVDF) 的转移情况。

【使用方法】

1. **溶解:** 室温或 37℃ 水浴解冻并充分混匀。
2. **混合:** 将样品与 5×上样缓冲液按 4:1 的比例混合 (例如: 40 μL 蛋白样品加入 10 μL 缓冲液)。若样品浓度过高，可用 ddH₂O 预稀释。
3. **变性:** 混合后，95-100℃ 加热 5-10 分钟。
4. **离心:** 冷却至室温，以 10,000-14,000 rpm 离心 2-5 分钟，取上清液即可进行电泳。

【指示剂迁移参考】

| 凝胶浓度 (%) | 溴酚蓝 (蓝色) 近似位置 | 派洛宁 Y (粉红色) 相对位置 |
|----------|---------------|------------------|
| 8% | ~30 kDa | 迁移最快, 位于前端 |
| 12% | ~20 kDa | 位于溴酚蓝下方 |
| 15% | ~10 kDa | 派洛宁 Y 迁移可能慢于溴酚蓝 |

注: 在经典 Tris-Glycine 电泳体系 (SDS-PAGE) 中, 两种染料的迁移位置随凝胶浓度的变化规律如上

【注意事项】

- 溶解预警:** -20°C 下 SDS 可能会析出。使用前请务必确认溶液完全清亮。若有沉淀, 可通过 37°C 水浴促溶并摇匀。
- 颜色变化:** 受 DTT 及温度影响, 冻存状态下溶液可能呈现深棕色, 复温溶解后会恢复正常, 不影响实验结果。
- 上样量控制:** 加样量过多可能导致条带拖尾或跑样不齐; 加样不足则可能导致信号微弱。
- 示踪染料偏差:** 由于不同厂家生产的预制胶或配制缓冲液的离子强度差异, 染料的绝对迁移位置可能存在 ± 5 kDa 的波动。
- 操作规范:** 必须在通风处操作, 穿实验服并戴一次性手套。