

荧光蛋白上样缓冲液

货号: AC13329

保存: -20°C, 有效期 12 个月。

规格: 100 μ L/1mL

注意: 1mL 规格包含 3 管: Instant-Bands, Resuspension Buffer 和 Enhancing buffer。100 μ L 规格包含 2 管: Instant-Bands buffer (Instant-Bands 干粉已用 Resuspension Buffer 重悬) 和 Enhancing buffer。只有使用 Bis-tris 胶时才需要加 Enhancing Buffer。

产品介绍:

荧光蛋白上样缓冲液在电泳前的样品处理阶段对 SDS-PAGE 的蛋白样品进行预染, 标记上荧光。实验完成以后, 凝胶中或转膜后的蛋白条可直接通过紫外灯、LED 灯或其他数字成像系统进行观察和分析, 无需染色脱色。

荧光蛋白上样缓冲液灵敏度比银染高。稳定性强, 背景低。可对所有蛋白进行染色, 不影响蛋白的迁移率与电泳图谱。电泳过程中, 游离的染料分子与溴酚蓝的迁移速率一致, 跑胶结束时移至凝胶末端, 背景干净。荧光蛋白上样缓冲液非常适合用于追踪蛋白表达纯化以及 Western blot 的 SDS-PAGE。

使用步骤:

- 1. 1mL 规格:** 请在使用前根据管壁标签上的体积加入 resuspension buffer 重悬得到 Instant-Bands buffer。Resuspension buffer 在 4°C 可能会有沉淀产生, 室温下放置至沉淀消失。
100 μ L 规格: 直接进行第二步操作。
- 将 Instant-Bands buffer 与待电泳蛋白样品 1:2 混合。如 3ul Instant-Bands buffer + 6ul 蛋白样品。
- 90-100°C 加热上述处理的样品混合液 5 分钟。细胞或组织样品, 加热时间延长至 10 分钟。确保加热温度 >90°C 使样品充分受热。
大部分预制胶 (Bis-Tris 体系除外) 可以直接进行下一步。Bis-Tris 体系的预制胶 (如 Life Technology), 需加入 20% 已处理样品体积的 Enhancing buffer。比如, 10ul 已处理的样品需加入 2ul Enhancing buffer。
- 样品可以上样进行电泳了 (无需再加 Loading Buffer 处理)。
- 电泳结束后, 将凝胶放至透射仪上进行观察和拍照。透射仪可以是紫外灯, 蓝光 LED 灯或其它凝胶成像系统。如果光源在可见光波长范畴的无需剥胶, 因为可见波长范围内的光可以穿透玻璃或塑料材质的胶板。
- (可选的) 如果有需要, 经荧光蛋白上样缓冲液处理的凝胶仍可进行考染。按标准的考染步骤进行即可。

注意事项:

- 请勿使用该上样缓冲液处理预染的或预处理的蛋白分子量标准。这些产品与荧光蛋白上样缓冲液不兼容。
- 灵敏度影响因素: 高 pH (大于 7) 不会影响染色, 低 pH 则会降低染色的效率, 如果样品的 pH 低于 5, 建议将 pH 调整至 7 以上。
- 荧光蛋白上样缓冲液不适合在如下 SDS-PAGE 实验中使用: 切割蛋白条带用以测序、质谱分析或抗体制备。

4. 建议-20 保存，如果室温放置 2-3 周，则可添加新的 DTT，蛋白条带会重新变得清晰和明亮。添加 DTT 的终浓度不要超过 20 mM。也可以添加其他还原剂 TCEP(2 mM)，效果也很好。

相关文献:

- [1] Zhiheng Ren, Chenli Zhang, Linna Ma, et al. Lysophosphatidic acid induces the migration and invasion of SGC-7901 gastric cancer cells through the LPA2 and Notch signaling pathways. *International Journal of Molecular Medicine*. May 2019. (IF 2.928)