



WB 上样缓冲液的选择和使用

蛋白样品制备是免疫印迹(western blotting)的第一步,也是决定实验成败的关键步骤。在蛋白提取和定量后,就需加入蛋白上样缓冲液对蛋白进行处理,使蛋白样品能在接下来的电泳中分离。

目前的蛋白上样缓冲液主要为还原(变性)蛋白上样缓冲液和非还原(非变性)蛋白上样缓冲液。

一般的抗体只能识别抗原蛋白中的线性序列结构表位(一级结构),因此,为使抗体能够结合该表位,需要将蛋白样本进行变性,打开其折叠的空间结构(除抗体说明书特别标注之外,一般情况下,均使用变性蛋白样品)。还原(变性)蛋白上样缓冲液含有可完全消除蛋白高级结构的必需试剂。缓冲液中含有的 SDS 可断裂蛋白分子内和分子间的氢键,使分子去折叠,破坏蛋白质分子的二级和三级结构,同时 SDS 也与蛋白疏水区结合,由于 SDS 带大量的负电荷,因此消除或掩盖了不同种类蛋白质间原有电荷的差异,使其均带有相同密度的负电荷。缓冲液中的强还原剂 DTT 则能使半胱氨酸残基之间的二硫键断裂,分子被解聚成组成它们的多肽链。缓冲液中还含有甘油,确保上样后蛋白样本沉积在点样孔中。溴缓冲液中的酚蓝染料呈蓝色,且分子量比绝大部分蛋白质小,电泳中比其他蛋白质移动速度快,可监控电泳进程。加入还原(变性)蛋白上样缓冲液的蛋白样品最后需 100°C 水浴 5 分钟变性。

某些抗体识别的表位是非连续氨基酸构成的蛋白三维结构,此种情况则需要使用非变性蛋白样品进行电泳,抗体的说明书一般会标注。非还原(非变性)蛋白上样缓冲液不加 SDS 和 DTT,蛋白样本也不需变性。

产品货号	产品名称及描述	规格	应用
ZN1877	SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液 2X (变性)	1ml×6	SDS-PAGE
ZN1878	SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液 5X (变性)	1ml×3	SDS-PAGE



ZN1880	双色蛋白上样缓冲液 4X (变性)	1ml×6	SDS-PAGE
ZN1880-3	双色蛋白上样缓冲液 4X (变性)	1ml×3	SDS-PAGE
ZN1875	SDS-PAGE Tricine 蛋白上样缓冲液 2X (变性)	1ml×6	多肽和小蛋白 SDS-PAGE
ZN1879	蛋白上样缓冲液 2X (非变性)	1ml×6	Native PAGE

一. SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液 2X (变性) / 5X (变性)

SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液适合用于变性 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳前的蛋白样本处理。一般电泳每孔上样量为 20ul,样品蛋白量不小于 20ug,如蛋白样品浓度小,可使用 5 X 蛋白上样缓冲液;反之可使用 2X 蛋白上样缓冲液。

使用:

1. 按照 1 体积蛋白样品加入 1 体积 SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液 2X (变性) 即 1 : 1 的比例混合 或 4 体积蛋白样品加入 1 体积 SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液 5X(变性) 即 4 : 1 的比例混合,经 100°C水浴变性 5 分钟后即可上样,电泳。
2. 通常电泳到当溴酚蓝染料到达凝胶的底端处附近即可停止电泳。

二. 双色蛋白上样缓冲液 4X (变性)

双色蛋白上样缓冲液 4X (变性) 适用于 SDS-PAGE 电泳前的蛋白样本处理。该优化上样缓冲液可以保护蛋白样本在 SDS-PAGE 上样前加热处理和电泳过程中不被降解。该上样缓冲液含有的两种示踪染料可监控电泳进程,分别是蓝色和粉红色,此外粉红色染料还可以监控蛋白转膜效率。

使用:

1. 按照 1 体积蛋白样品加入 1 体积双色蛋白上样缓冲液 4X (变性) 即 1 : 1 的比例混合,经 100°C水浴变性 5 分钟后即可上样,电泳。
2. 通常电泳到当染料到达凝胶的底端处附近即可停止电泳。



图 1.SDS-PAGE 蛋白电泳分离后的凝胶

- 1 泳道为普通蛋白上样缓冲液处理的样品
- 2 泳道为双色蛋白上样缓冲液处理的样品



图 2.转印成功后的印迹膜

- 1 道为普通蛋白上样缓冲液处理的样品
- 2 道为双色蛋白上样缓冲液处理膜上的粉红色染料显示转膜成功

三 . SDS-PAGE Tricine 蛋白上样缓冲液 2X (变性)

SDS-PAGE Tricine 蛋白上样缓冲液适用于多肽和小蛋白 SDS-PAGE 聚丙烯酰胺凝胶电泳前的蛋白样本处理。

使用：

1. 按照 1 体积蛋白样品加入 1 体积 SDS-PAGE Tricine 蛋白上样缓冲液 2X (变性) 即 1 : 1 的比例混合，经 100°C 水浴变性 5 分钟后即可上样，电泳。
2. 通常电泳到当溴酚蓝染料到达凝胶的底端处附近即可停止电泳。

四. 蛋白上样缓冲液 2X (非变性)

蛋白上样缓冲液 2X (非变性) 适用于非变性蛋白的聚丙烯酰胺凝胶电泳前的蛋白样本处理。

使用：

1. 按照 1 体积蛋白样品加入 1 体积蛋白上样缓冲液即 1 : 1 的比例混合，即可上样，电泳。
2. 通常电泳到当溴酚蓝染料到达凝胶的底端处附近即可停止电泳。