



# 蛋白电泳

上海吉至生化科技有限公司

电话: 400-900-4166  
传真: 021-37520392  
邮箱: sales@acmec-e.com  
网址: www.acmec-e.com  
地址: 上海市奉贤区望园南路1588弄1号601室



官方网站



官方微信



## SDS-PAGE的原理

SDS是一种阴离子表面活性剂，能打断蛋白质的氢键和疏水键，并按一定的比例和蛋白质分子结合成复合物，使蛋白质带负电荷的量远远超过其本身原有的电荷，掩盖了各种蛋白分子间天然的电荷差异。因此，各种蛋白质—SDS复合物在电泳时的迁移率，不再受原有电荷和分子形状的影响。而只是棒长的函数。这种电泳方法称为SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳（简称SDS-PAGE）。实验使用过程中，还加入DTT或者巯基还原剂，以打开蛋白间的二硫键，破坏蛋白质的四级结构。SDS-PAGE最常采用垂直板不连续系统（分离胶与浓缩胶）。

### 一、样品的制备

本公司有多种用于样品制备的组织裂解液，每款裂解液会配备一管PMSF。本公司还有多种蛋白酶抑制剂供您使用。

AR0010	高效RIPA组织/细胞裂解液
AR0020	普通RIPA组织/细胞裂解液
AR0030	非变性组织细胞裂解液
A95810	Aprotinin 蛋白酶抑制剂（抑肽酶）
AP8100	PepstatinA 胃蛋白酶抑制剂
T55920	Trypsin inhibitor胰蛋白酶抑制剂
AP1260	(Al-in-one, 100x) 蛋白磷酸酶抑制剂混合物
539133	Protease Inhibitor Cocktail Set VI
539134	Protease Inhibitor Cocktail Set III
PC0030	Lowry法蛋白浓度测定试剂盒
PC0010	Bradford蛋白浓度测定试剂盒
PC0020	BCA蛋白浓度测定试剂盒
BC3710	全蛋白提取试剂盒
BC3720	植物蛋白提取试剂盒
BC3730	磷酸化蛋白提取试剂盒
BC3740	胞浆蛋白提取试剂盒

### 1、蛋白提取

货号	名称	说明
AR0010	高效RIPA组织/细胞裂解液	在普通RIPA的基础上改进而来，含蛋白酶抑制剂及磷酸酶抑制剂（配有一支PMSF）
AR0020	RIPA组织/细胞裂解液	RIPA经典配方，适于绝大多数蛋白-蛋白相互作用的免疫实验。组成：50mM Tris-HCl(pH7.4),150mM NaCl,1%NP-40, 0.1%SDS（配有一支PMSF）
AR0030	非变性组织/细胞裂解液	非变性条件下裂解的蛋白产物最大限度地保留了蛋白的特性和功能，如抗原-抗体结合或酶学活性，可以用于Co-IP（配有一支PMSF）

注：本系列蛋白提取试剂所提取的蛋白由于含有去污剂，所以不适合于Bradford蛋白浓度测定试剂盒，请选择BCA法或者Lowry法。



## 2、蛋白定量

蛋白含量测定是以标准蛋白作为对照，根据蛋白浓度不同，吸光值不同而达到定量的目的。有些方法是根据蛋白本身的吸光值A280（紫外光谱吸收法）来定量，但更多的是用染料对蛋白进行染色，在不同的纳米波长下检测复合物的吸光值来定量的。后一种方法应用更普遍。

货号	名称	组成		
PC0010	Bradford 蛋白浓度测定试剂盒	5×G250染色液 BSA(5mg/ml) PBS稀释液	100ml 1ml 30ml	干扰物质少, Tris、糖、甘油、巯基还原剂、 氨、EDTA等均不干扰测定
PC0020	BCA 蛋白浓度测定试剂盒	BCA Reagent Cu Reagent BSA(5 mg/ml) PBS稀释液	100ml 3ml 1ml 30ml	BCA法的显著优点是不受去垢剂的影响
PC0030	Lowry法 蛋白浓度测定试剂盒	Folin酚甲试剂A Folin酚甲试剂B Folin酚乙试剂 BSA(5 mg/ml) PBS稀释液	100ml×2 5ml 20ml 1ml 30ml	Lowry法测定较为不受脂类物质干扰, 适于 脂类含量较高的样品测定。也能耐受相 当浓度的去垢剂如SDS

## 二、蛋白电泳

系号	货号	名称
1	T19800	TRIS 三羟甲基氨基甲烷
2	G12760	Glycine 甘氨酸
3	S19770	SDS 十二烷基硫酸钠
4	A15120	丙烯酰胺
5	N74690	甲叉双丙烯酰胺
6	AA1330	过硫酸铵
7	D64440	DTT二硫苏糖醇
8	M82101	巯基还原剂
9	AA1010	30% Acr/Bis (29:1) 制胶液
10	AS1051	4XSDS-PAGE分离胶缓冲液 (pH=8.8)
11	AS1052	4XSDS-PAGE浓缩胶缓冲液 (pH=6.8)
12	AP1016	4×蛋白上样缓冲液 (含巯基还原剂)
13	AP1015	4×蛋白上样缓冲液 (含DTT)



14	AD1070	1M DTT
15	AA1030	10%APS
16	AT1020	1M Tris-HCL (pH6.8)
17	AT1010	1.5M Tris-HCL(PH8.8)
18	AS1010	10%SDS
19	AT1070	5×Tris-甘氨酸电泳缓冲液

SDS-PAGE如今已形成成熟的方案,实验室可根据自己的情况和习惯来选择试剂。

## 1、制胶

### 凝胶配置表(一)

	分离胶12%	分离胶10%	分离胶8%	浓缩胶(3%)
总体积	10ml	10ml	10ml	5ml
4X分离胶缓冲液 (PH8.8)	2.5ml	2.5ml	2.5ml	0
4X浓缩胶缓冲液 (PH6.8)	0	0	0	1.25
30%Acr/Bis (29 : 1) 制胶液	4ml	3.3	2.7	0.5
ddH2O	3.4ml	4.1ml	4.7ml	3.2ml
10%APS	100μl	100μl	100μl	75μl
TEMED	10μl	10μl	10μl	7.5μl

### 凝胶配置表(二)

	分离胶12%	分离胶10%	分离胶8%	浓缩胶(3%)
总体积	10ml	10ml	10ml	5ml
30%Acr/Bis (29:1) 制胶液	4ml	3.3ml	2.7ml	0.5ml
1M Tris-HCL(PH6.8)	0	0	0	0.625ml
1.5M Tris-HCL(PH8.8)	2.5ml	2.5ml	2.5ml	0
10%SDS	100μl	100μl	100μl	50μl
ddH2O	3.3ml	4.0ml	4.6ml	3.75ml
10%APS	100μl	100μl	100μl	75μl
TEMED	10μl	10μl	10μl	7.5μl

我们除了有配置常规蛋白胶的30%Acr/Bis (29: 1) 外,还有跑小分子蛋白的40%Acr/Bis (37.5: 1),跑核酸电泳的40%Acr/Bis (19: 1),其他规格的请联系销售订购。

为了客户实验方便,我们还提供SDS-PAGE凝胶制备试剂盒 (P1200)和Tris-Tricine-SDS-PAGE凝胶制备试剂盒 (P1320),后者主要用于小于10KD的蛋白和多肽的分离。包含了制胶的全部试剂,方便客户操作。

如果您想节省时间,也可以使用我们的预制胶,无需配胶,直接跑电泳即可。



APG00810-S	Precast-Gel变性蛋白预制胶 浓度8%	10块/盒
APG01010-S	Precast-Gel变性蛋白预制胶 浓度10%	10块/盒
APG01210-S	Precast-Gel变性蛋白预制胶 浓度12%	10块/盒
APG01510-S	Precast-Gel变性蛋白预制胶 浓度15%	10块/盒
APG41510-S	Precast-Gel变性蛋白预制胶 浓度4-15%	10块/盒
APG42010-S	Precast-Gel变性蛋白预制胶 浓度4-20%	10块/盒
APG82010-S	Precast-Gel变性蛋白预制胶 浓度8-20%	10块/盒
APG00810-N	Precast-Gel非变性蛋白预制胶 浓度8%	10块/盒
APG01010-N	Precast-Gel非变性蛋白预制胶 浓度10%	10块/盒
APG01210-N	Precast-Gel非变性蛋白预制胶 浓度12%	10块/盒
APG01510-N	Precast-Gel非变性蛋白预制胶 浓度15%	10块/盒
APG41510-N	Precast-Gel非变性蛋白预制胶 浓度4-15%	10块/盒
APG42010-N	Precast-Gel非变性蛋白预制胶 浓度4-20%	10块/盒
APG82010-N	Precast-Gel非变性蛋白预制胶 浓度8-20%	10块/盒
APG00010	Precast-Gel Running buffer, for SDS-PAGE	
APG00020	Precast-Gel Running buffer, for Native-PAGE	

Precast-Gel预制胶默认送Running buffer

注意:预制胶请用我们赠送的Running buffer 作为电泳缓冲液, 不推荐使用其他的缓冲液。

#### Precast-Gel预制胶参数

- ◆ 胶板尺寸:10.0×8.5×0.45cm;
- ◆ 凝胶尺寸:8.0×7.4×0.15cm。

#### Precast-Gel具有如下特点:

- ◆ 特质凝胶和缓冲液配方, 分辨率高, 条带清晰, 电泳效果极佳;
- ◆ 保存期长, 4°C储存达到18个月;
- ◆ 兼容目前市场各种电泳槽, 如BIORAD, 天能和君意东方等;
- ◆ 可用于SDS变性及非变形电泳;
- ◆ 10%, 12%, 15%及4-15%梯度等多种不同浓度供选择; 1.5mm胶厚度;
- ◆ 电泳时间短, 在150V电压下, 电泳40-50分钟即可完成;
- ◆ 出售时免费附送足量的电泳缓冲液;
- ◆ 玻璃电泳板蛋白吸附率低, 电泳效果更好。



## 2、上样及电泳

AP1015	4×蛋白上样缓冲液(含DTT)
AP1016	4×蛋白上样缓冲液(含巯基还原剂)
AP1018	2×蛋白上样缓冲液(含DTT)
AP1019	2×蛋白上样缓冲液(含巯基还原剂)
AP1017	4×非变性蛋白上样缓冲液
PA1027	2×非变性蛋白上样缓冲液
AT1070	5×Tris甘氨酸电泳缓冲液
AT1510	Tris-Mops缓冲液(10×)
PR1300	超低分子量蛋白标准(3.3-20.1KD)
PR1400	低分子量蛋白质标准(14.4-97.4KD)
PR1500	次高分子量蛋白质标准(43-200kDa)
PR1600	预染低分子量蛋白质(14.4-97.4KD)
PR1700	预染次高分子量蛋白质标准(43-200kDa)
PR1800	Western Blot Marker(19-110 KDa)
PR1900	预染超低分子量蛋白marker(3.3-31KD)
PR1910	彩虹180广谱蛋白marker(11-180KD)
PR1920	彩虹245广谱蛋白marker(11-245KD)
PR1930	彩虹245plus广谱蛋白marker(5-245KD)

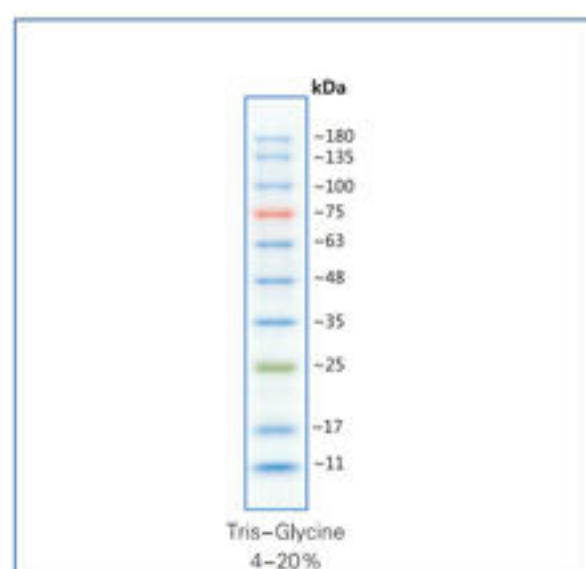
本公司的上样缓冲液既有用于非变性的(AP1017、AP1027)又有变性的(AP1015、AP1016、AP1018、AP1019), 有不同的稀释倍数, 可以满足客户的多种实验要求。

电泳缓冲液既有用于普通的tris-甘氨酸缓冲系统的产品(AT1070), 又有用于Bis-tris这种系统的MOPS缓冲液(AT1510)。

蛋白marker有多种, 非预染marker、预染marker、彩虹marker、Western Blot Marker。而且还有GE原装的非变性marker, 广泛的分子量和用途供您选择。

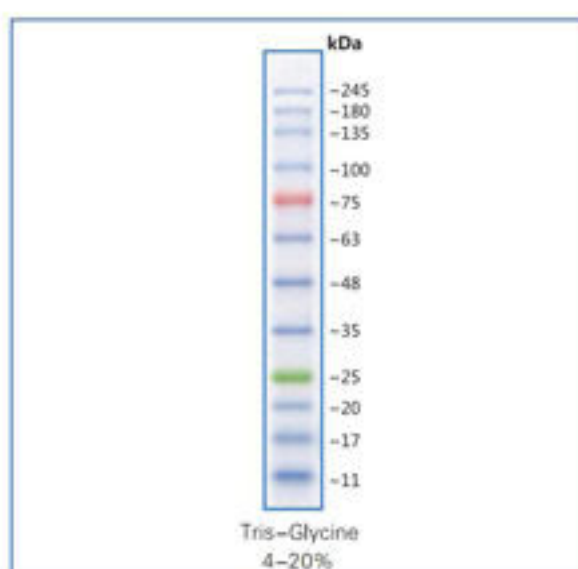


## 蛋白分子量标准(图)



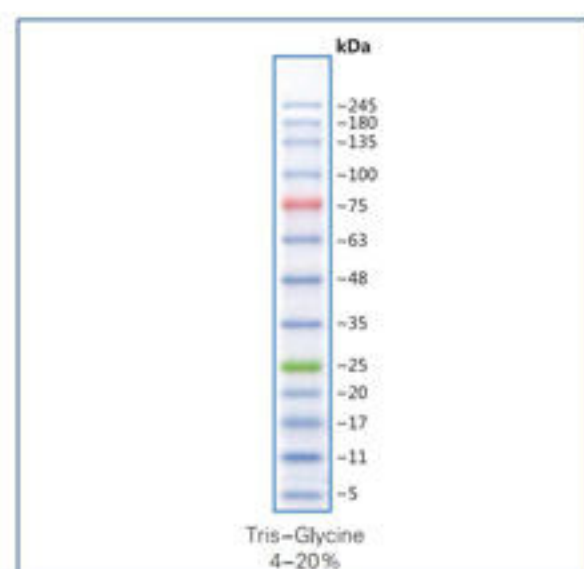
彩虹180广谱蛋白marker(11-180kD)

货号	PR1910	规格	20T/50T/100T
----	--------	----	--------------



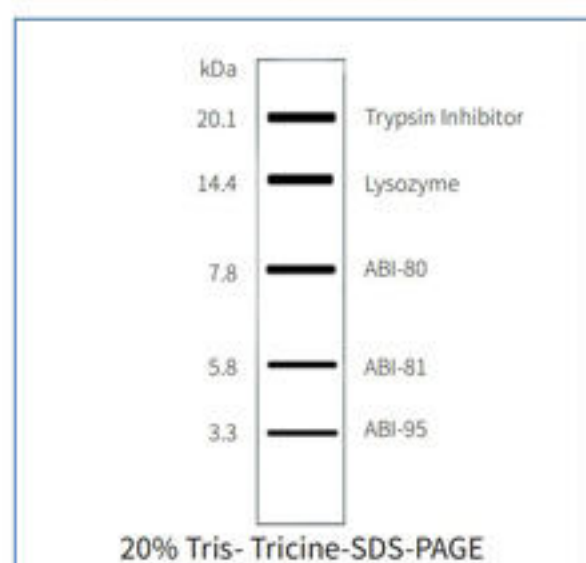
彩虹245广谱蛋白marker(11-245kD)

货号	PR1920	规格	20T/50T/100T
----	--------	----	--------------



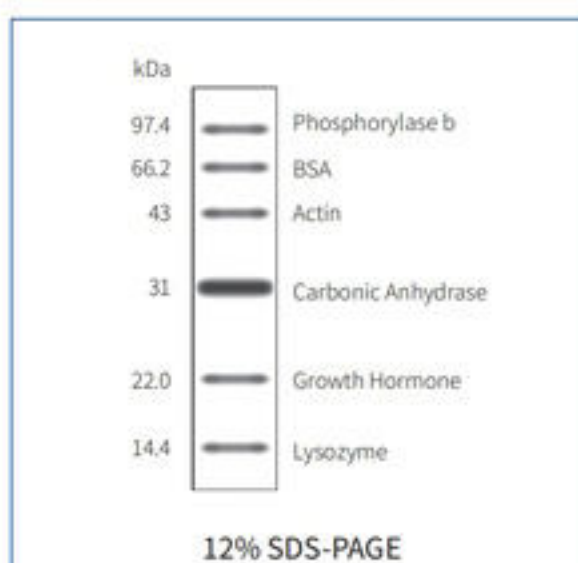
彩虹245plus广谱蛋白marker(5-245kD)

货号	PR1930	规格	20T/50T/100T
----	--------	----	--------------



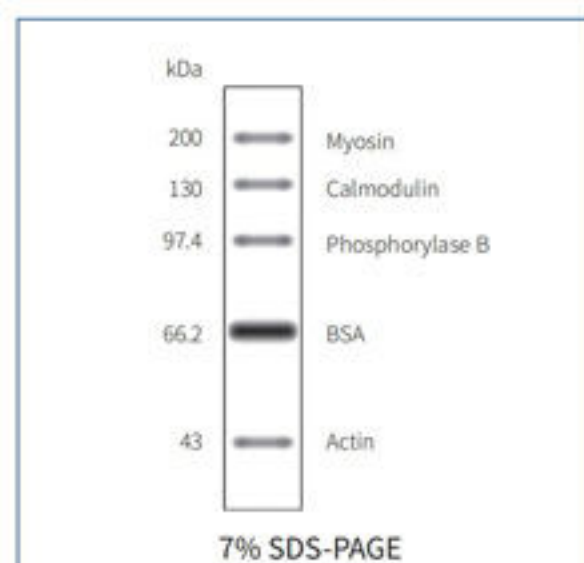
超低分子量蛋白质Marker(3.3kD-20.1kD)

货号	PR1300-15	规格	15T
----	-----------	----	-----



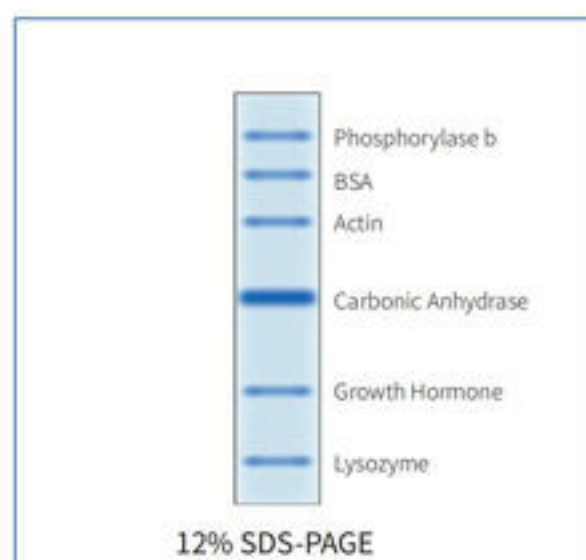
低分子量蛋白Marker(14.4kD-97.4kD)

货号	PR1400-20	规格	20T
----	-----------	----	-----



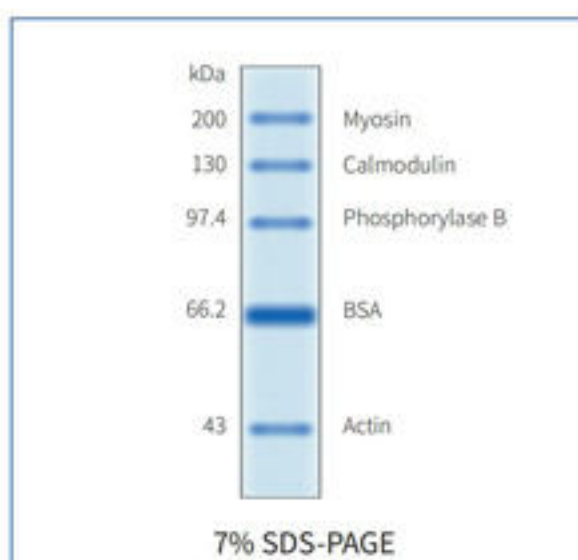
次高分子量蛋白质Marker(43kD-200kD)

货号	PR1500-10	规格	10T
----	-----------	----	-----



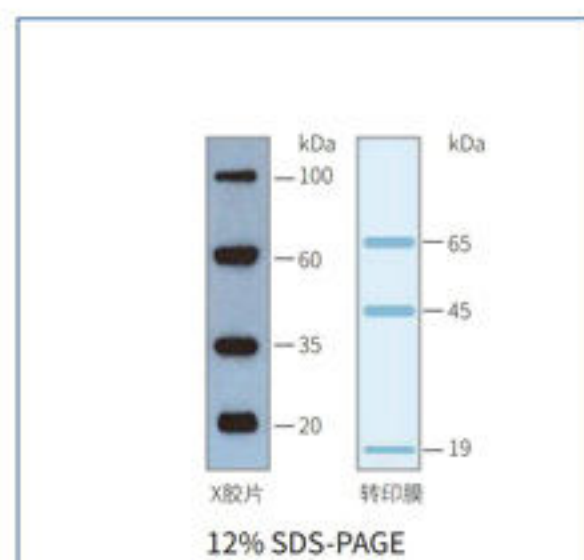
预染低分子量蛋白质Marker(14.4kD-97.4kD)

货号	PR1600-20	规格	20T(200μl)
----	-----------	----	------------



预染次高分子量蛋白Marker(43kD-200kD)

货号	PR1700-10	规格	10T(100μl)
----	-----------	----	------------



Western Blot Marker

货号	PR1800	规格	10T/20T
----	--------	----	---------



### 3. 染色

AP1310	考马斯亮蓝R 250染色液
AP1300	考马斯亮蓝蛋白胶快速染色液
AP1305	考马斯亮蓝染色套装
AG7210	PAGE凝胶银染试剂盒

跑胶后的染色可以用银染或者考染的方法, 如果蛋白量少, 推荐使用灵敏度高一些的银染试剂盒 (AG7210), 否则常规染色可以使用 (AP1305) 和 (AP1300), 其中AP1300的优点是染色时间短, 半小时内即可检测到蛋白电泳条带, 节省了染色脱色的时间。

## 三、Western blot

经过PAGE分离的蛋白质样品, 转移到固相载体 (例如硝酸纤维素薄膜) 上, 固相载体以非共价键形式吸附蛋白质, 且能保持电泳分离的多肽类型及其生物学活性不变。以固相载体上的蛋白质或多肽作为抗原, 与对应的抗体发生免疫反应, 再与酶或同位素标记的第二抗体作用, 经过底物显色或放射自显影以检测电泳分离的特异性目的基因表达的蛋白成分, 此技术称为免疫印迹 (Western blot)。

Western blotting检测系统除需要过氧化物酶标记的各种二抗外, 还需要配套的显色试剂。吉至提供DAB显色和ECL化学发光两种试剂及相应试剂盒。

### 1. 转膜

Millipore或PALL公司的尼龙膜和pvd膜, 具有0.22um和0.45um两种规格。

转膜后还可以用AP0012 (10×丽春红) 检测转膜效果, 尤其是针对NC膜效果更佳。

为了节省成本和时间, 您可以选择本公司的ASW3020 (Western Blot膜再生液) 对用过的膜进行清洗, 随后, 可以使用不同的抗体进行下一轮Western Blot实验。

膜再生液实质是在不影响膜上结合的抗原的条件下将抗体洗脱下来, 实际操作中, 膜类型、抗体类型、浓度及抗原特性都影响洗脱难易度。

注意: 适用于ECL和类似的化学发光试剂进行的Western检测。不适用于非化学发光试剂进行的Western检测, 例如DAB, NBT/BCIP。

AP0012	10×丽春红
SW3010	膜封闭液
AA1800	抗体稀释液
AA1810	一抗稀释液
AA1820	HRP标记抗体稀释液
AA1830	AP标记抗体稀释液
AA1840	荧光抗体稀释液
AT1085	1×TBST

实验操作过程中您可以针对不同的抗体选择上面合适的稀释液。



## 2、显色

### Western Blotting DAB检测试剂盒

本试剂盒适合加一抗后的后续显色。操作简单, 适合重组等高表达蛋白的检测, 其敏感性不如ECL法。

编号	名称	说明
SW1010	Western blotting (小鼠IgG) DAB显色试剂盒	可配制250ml二抗和100ml显色液, 适合一抗为小鼠IgG
SW1020	Western blotting (兔IgG) DAB显色试剂盒	可配制250ml二抗和100ml显色液, 适合一抗为兔IgG
SW1030	Western blotting (山羊IgG) DAB显色试剂盒	可配制250ml二抗和100ml显色液, 适合一抗为山羊IgG
SW1040	Western blotting (小鼠/兔IgG) DAB显色试剂盒	可配制250ml二抗和100ml显色液, 适合一抗为小鼠和兔IgG

#### 试剂盒内容:

- ◆ 封闭试剂: 30g (可配制400ml) 脱脂奶粉及其他蛋白, 缓冲盐等混合物;
- ◆ 10倍浓缩抗体稀释液, 50ml;
- ◆ HRP标记二抗, 0.5ml, 效价1:500-3000;
- ◆ 20倍DAB浓缩显色液, 5mlA+5mlB。

### Western Blotting ECL化学发光检测试剂盒

本试剂盒适合加一抗后的后续显色。敏感性比DAB高10倍。适合组织及细胞中常规蛋白的检测, 但需有暗室等相关配套条件。

编号	名称	说明
SW2010	Western blotting (小鼠IgG) ECL显色试剂盒	可配制250ml二抗和50ml显色液, 适合一抗为小鼠IgG
SW2020	Western blotting (兔IgG) ECL显色试剂盒	可配制250ml二抗和50ml显色液, 适合一抗为兔IgG
SW2030	Western blotting (山羊IgG) ECL显色试剂盒	可配制250ml二抗和50ml显色液, 适合一抗为山羊IgG
SW2040	Western blotting (小鼠/兔IgG) ECL显色试剂盒	可配制250ml二抗和50ml显色液, 适合一抗为小鼠和兔IgG



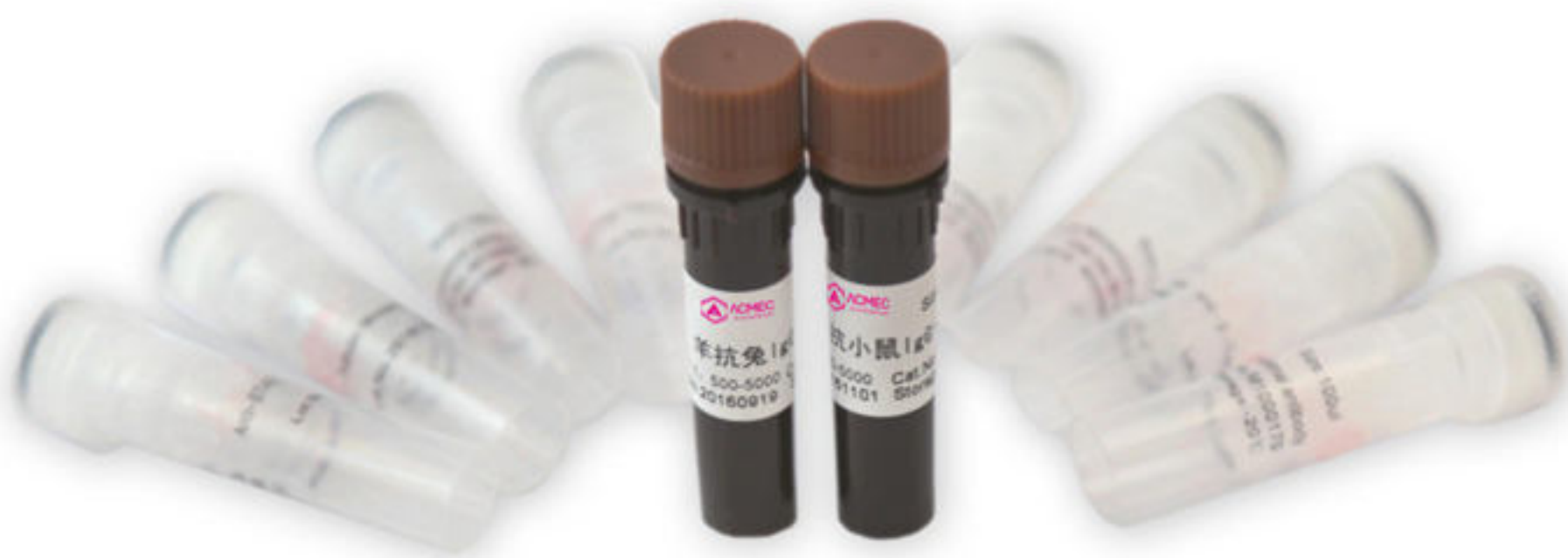
### 试剂盒内容:

- ◆ 封闭试剂:30g(可配制400ml)脱脂奶粉及其他蛋白,缓冲盐等混合物;
- ◆ 10倍浓缩抗体稀释液,50ml;
- ◆ HRP标记二抗,0.1ml,效价1:2000-5000;
- ◆ ECL显色液,25mlA+25mlB。

### 部分抗体展示

货号	名称	规格	单价
ASE134	Goat Anti-rabbit IgG/HRP	0.1ml	120
ASE131	Goat Anti-Mouse IgG/HRP	0.1ml	120
ASE135	Goat Anti-Chicken IgG/HRP	0.1ml	120
ASE068	Streptavidin/HRP	0.1ml	300
K001527P	Rabbit Actin Polyclonal antibody	100ul	520
M1000170	Mouse Actin Monoclonal antibody	100ul	520
RG000110	Rabbit GAPDH Polyclonal antibody	100ul	520
M1000110	Mouse GAPDH Monoclonal antibody	100ul	520
RG000130	Rabbit $\alpha$ -Tubulin Polyclonal antibody	100ul	520
M1000130	Mouse $\alpha$ -Tubulin Monoclonal antibody	100ul	520
RG000140	Rabbit $\beta$ -Tubulin Polyclonal antibody	100ul	520
M1000140	Mouse $\beta$ -Tubulin Monoclonal antibody	100ul	520
K001653P	Rabbit TNF alpha Polyclonal Antibody	50ul	960
K000502P	Rabbit Caspase 3 Polyclonal Antibody	50ul	960
K001661P	Rabbit IL-6 Polyclonal Antibody	50ul	960
K000443P	Rabbit CD34 Polyclonal Antibody	50ul	960
K001594P	Rabbit BCL-2 Polyclonal Antibody	50ul	960
K004610P	Rabbit CD68 Polyclonal Antibody	50ul	960





### 新星抗体:TNF

英文名称:Rabbit TNF Polyclonal Antibody

别名:DIF;TNF-alpha;TNFA;TNFSF2;TNLG1F

应用:WB,IHC

稀释比例:WB1:1000-1:2000 IHC1:50-1:100

交叉反应:Human,Mouse,Rat

保存:Store at -20°C, Avoid freeze/thaw cycles.Stable for one year from the date of shipment.

蛋白分子量:26kDa

GeneID:7124

储存液:PBS with 0.02% sodium azide, 50% glycerol, pH7.3

纯化方法:Affinity purification

亚型:IgG

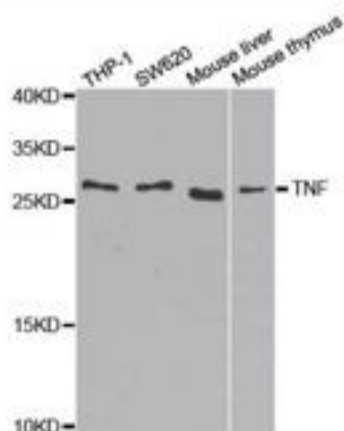
免疫原:Recombinant protein of human TNF

形状:Lyophilized or Liquid

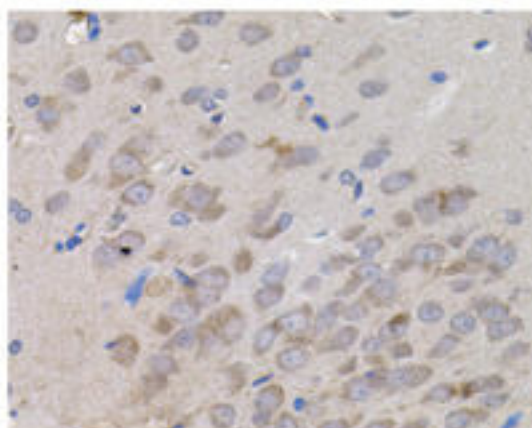
Swiss Prot:P01375

克隆类型:Polyclonal Antibody

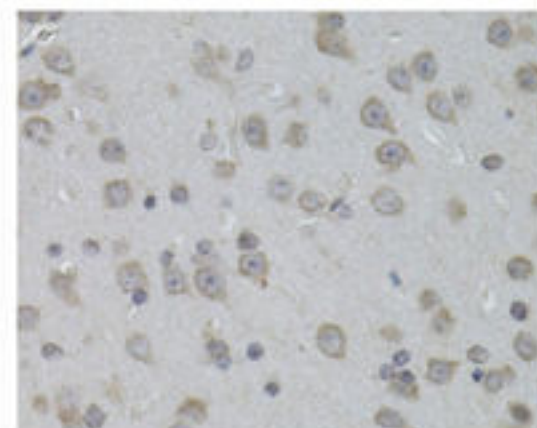
宿主:Rabbit



Western blot analysis of extracts of various cell lines, using TNF antibody.



Immunohistochemistry of paraffin-embedded mouse brain using TNF antibody at dilution of 1:100(x40 lens).



Immunohistochemistry of paraffin-embedded rat brain using TNF antibody at dilution of 1:100(x40 lens)