

磷酸化蛋白凝胶检测试剂盒

产品货号: 26613

产品规格: 10 MINIGELS

产品简介:

在含 Ca^{2+} 离子的环境中, NaOH 可将蛋白质中的磷酸基团水解成游离的 PO_4^{3-} 离子, PO_4^{3-} 离子随即与 Ca^{2+} 离子反应形成不溶性的磷酸钙, 磷酸钙在钼酸铵和硝酸作用下, 形成不溶性的复合物, 此复合物经甲基绿染色, 形成绿色或蓝绿色的条带。本试剂盒是针对SDS-PAGE中的磷酸化蛋白检测而设计的, 无需经过Western blot实验, 且具有磷酸化蛋白特异性, 可以从样品中特异性地检测出磷酸化蛋白。本试剂盒的检测灵敏度取决于目的蛋白质的磷酸化程度, 可检测出50ng的酪蛋白。本试剂盒可以染10片小胶块(6×8cm)。

产品组成:

试剂名称	规格	保存条件
6× 溶液1	100mL	2-8°C
1× 溶液2	200mL	2-8°C
4× 溶液3	50mL	2-8°C
10× 溶液4	20mL	2-8°C
2× 溶液5	100mL	2-8°C
5× 溶液6	40mL	2-8°C
10× 溶液7	20mL	2-8°C

操作步骤:

1. 请先将各浓缩液用双蒸水稀释相应倍数制成1倍浓度工作液再使用。
2. 将溶液3置于60°C水浴中保温。
3. 取出电泳后的聚丙烯酰胺凝胶, 加入20mL的溶液1, 置于摇床上, 振荡30min。
4. 倾出溶液1, 加入20mL溶液2, 置于摇床上, 振荡30min。
5. 倾出溶液2, 加入20mL纯净水, 置于摇床上, 振荡3min, 重复此步骤1次。
6. 倾出纯净水, 加入20mL溶液3, 置于60°C恒温培养箱中, 静置20min。
7. 倾出溶液3, 加入20mL溶液4, 置于摇床上, 振荡10min。
8. 倾出溶液4, 加入20mL溶液5, 置于摇床上, 振荡20min。
9. 倾出溶液5, 加入20mL溶液6, 置于摇床上, 振荡染色15min。
10. 倾出溶液6, 加入20mL溶液1, 置于摇床上, 振荡脱色5~10min, 重复此步骤2次。
11. 待绿色的条带显示后, 加入20mL溶液7, 置于摇床上, 振荡过夜进一步脱色。

注意事项:

1. 实验前, 根据所染胶块的数量, 取一定体积的各种溶液, 用双蒸水稀释为一倍浓度后再使用。
2. 本试剂盒的检测灵敏度取决于目的蛋白质的磷酸化程度, 由于不同磷酸化蛋白磷酸化程度不同, 所以本试剂盒对于不同磷酸化蛋白的检测灵敏度也有所不同。
3. 为了获得最佳染色特异性, 应先除去凝胶上的所有SDS和固定液(50%甲醇+10%乙酸)(另行配置)。固定步骤可除去SDS, 水洗步骤可除去固定液。为确保除去所有SDS和固定液, 有必要进行多次固定及多次水洗。在固定和水洗步骤中, 较大的或较厚的凝胶可能需要更多的固定液或更长的孵育时间, 此固定步骤可以在跑完PAGE电泳后先向凝胶里加入20mL固定液(液体完全覆盖胶面即可)固定3次, 每次10min或过夜固定后水洗3~5次, 再进行后续磷酸化



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

染色。

4. 加入溶液6后可以微波染色同时可能需要延长凝胶的脱色时间，将凝胶放回到溶液7中继续孵育脱色。
5. 步骤4中须将装凝胶的容器和凝胶表面残留的Ca²⁺清洗干净，否则将导致高背景且难于脱色；但水洗时间不可过长，否则将导致检测灵敏度下降，甚至实验失败。
6. 步骤5中装凝胶的容器须盖上盖子，否则可能导致凝胶卷曲，并产生高背景。
7. 步骤6中不可进行振荡操作，否则可能导致检测灵敏度下降或非特异性条带产生。
8. 本说明书所使用的试剂量和实验时间是针对80×60×1mm的凝胶制订的，若凝胶体积较大或较小，可适量调整试剂用量和实验时间。
9. 产品中的保存条件及有效期均以未开封情况下计算，为了防止产品与空气接触发生化学反应影响产品性能，将未使用完毕的组分按存储要求保存同时建议开封后的组分尽快使用完毕。
10. 使用后请旋紧瓶盖，防止溶液挥发和与空气中的物质发生化学反应。
11. 本试剂盒只能够用于体外实验，不能够用于临床、治疗和动物体内实验等，由此产生的后果概不承担责任。

运输和保存条件：

常温下运输，收到后将本试剂盒于4℃的环境中保存，保质期两年。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>