

中科瑞泰(北京)生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// www.real-tims.com.cn E-mail: real-times@163.com

10×碱性蛋白 Natie PAGE ②转膜缓冲液

产品编号	产品名称	规格		
BP5015	10×碱性蛋白 Natie PAGE ②转膜缓冲液	500 ml		

简介:

10×碱性蛋白 Natice PAGE ②转膜缓冲液适用于碱性蛋白电泳后凝胶上非变性碱性蛋白的转膜。本转膜液配制便捷,稀释后无需调节 pH 值。缓冲液中不含任何变性剂,保证了转膜中维持蛋白的活性状态。该缓冲液稀释 10 倍可配成 5 升即用型 1×缓冲液。

保存条件:

常温保存,两年有效。

配制方法:

将 10×转膜缓冲液用超纯水稀释 10 倍即配成 1×即用型转膜缓冲液。

	4、2月日刊杜畊巡山流			
	1×即用型转膜缓冲液			
	500 ml	1 L		
10×转膜缓冲液	50 ml	100 ml		
超纯水	450 ml	900 ml		
	不用调节 pH			

使用方法:

1. 碱性蛋白非变性电泳:

各种蛋白质分子由于所含的碱性氨基酸和酸性氨基酸的数目不同,因而有各自的等电点。凡碱性氨基酸含量较多的蛋白质称为碱性蛋白质,等电点偏碱性,如组蛋白、精蛋白等。反之,凡酸性氨基酸含量较多的蛋白质,等电点就偏酸性。分离碱性蛋白时候,要利用低 pH 凝胶系统,分离酸性蛋白时候,要利用高 pH 凝胶系统。酸性蛋白通常在非变性凝胶电泳中采用的 pH 是 8.8 的缓冲系统,蛋白会带负电荷,蛋白会相阳极移动;而碱性蛋白通常电泳是在微酸性环境下进行,蛋白带正电荷,这时候需要将阴极和阳极倒置才可以电泳。碱性蛋白电泳可参考使用碱性蛋白非变性 PAGE 凝胶制备及电泳试剂盒(货号:RTD6131)。

2. 转膜:

- ① 转膜方法:碱性蛋白在非变性状态的转膜建议用湿转法。
- ② 三明治结构:由于碱性蛋白 pl>7 在酸性转膜缓冲液中带正电荷,转膜三明治结构与传统转膜不同(传统的酸性蛋白转膜是根据"黑胶白膜"制作三明治)。碱性蛋白转膜根据"黑膜白胶"制作三明治,即膜置于转膜夹芯负极,凝胶置于转膜夹芯正极,这样凝胶上带正电荷的碱性蛋白才能转移到膜上。

碱性蛋白转膜三明治制作:

负极(电转夹黑色面)-海绵垫-3至5层滤纸-膜-凝胶-3至5层滤纸-海绵垫-正极(电转夹白色面)

- ③ 膜的选择: 膜可以用 PVDF 膜或 NC 膜,根据蛋白大小选择膜的孔径。一般说来,大于 20kD 蛋白选择 0.45µm 孔径,低于 20kD 选择 0.22µm 孔径。PVDF 膜使用前要用无水甲醇润湿活化,NC 膜只需用转膜缓冲液润湿就可以。
 - ④ 转膜条件:

由于在非变性条件下,不同碱性蛋白的空间结构,聚合状态,电荷数量都有不同,以下转膜条件仅供参考,客户针对自己的目的蛋白,最好经过1-2次预实验后,确定最佳的转膜条件。

蛋白大小	稳流	建议时间	降温措施
低于 70kD	180 mA	2 小时	需要
高于 70kD	300 mA	1.5 小时	需要