

获取发表级结果的技术方法与研究工具

推动科研发现的策略与方案

蛋白凝胶电泳是一种在进行下游检测或分析前分离蛋白混合物的常规方法,在提取、鉴定和表征蛋白的众多工作流程中,蛋白凝胶电泳是非常关键的一个步骤。

本手册介绍了如何确定合适的分离方案,如何选择凝胶和电泳设备,以及如何制备待分析的样本。此外,本手册还包含常见问题排查指南、操作演示视频、选择指南和缓冲液配方,以助您取得理想的成果。

我们的高品质蛋白电泳产品方案涵盖蛋白凝胶、蛋白染料、蛋白分子量标准、电泳缓冲液和转印设备等,可为您的不同实验需求提供针对性方案。





如需了解上述方案及更多产品的完整列表,请浏览 thermofisher.com/separate

目录

| 电泳技术概述 | 4 |
|----------------------------|------------|
| 选择合适的蛋白凝胶 | 7 |
| Bis-Tris 与 Tris-甘氨酸凝胶系统的比较 | 7 |
| 蛋白凝胶选择指南 | 10 |
| 蛋白预制胶 | 14 |
| 手灌胶系统 | 31 |
| 样品制备和缓冲液选择 | 33 |
| 蛋白提取和除杂方法 | 34 |
| 蛋白定量 | 37 |
| 电泳缓冲液的选择 | 39 |
| 缓冲液配方 | 40 |
| 蛋白分子量的估算 | 43 |
| 蛋白分子量标准的选择 | 43 |
| 电泳槽和电源的选择 | 49 |
| 电泳槽系统选择指南 | 50 |
| 电泳槽 | 51 |
| 电源 | 58 |
| 凝胶电泳 | 59 |
| 凝胶电泳条件 | 59 |
| 凝胶染色 | 60 |
| 蛋白染料 | 60 |
| 蛋白染料选择指南 | 65, 67, 68 |
| 蛋白免疫印迹 | 69 |
| 转印和检测 | 69 |
| 附录 | 71 |
| 常见问题排查指南 | 71 |
| 获取电泳实验方案 | 73 |
| 订购信息 | 74 |
| | |

电泳技术概述

电泳是指溶液中的带电颗粒在电场作用下发生移动的现象。电泳是一种可对蛋白和核酸进行简单、快速、灵敏的分离与分析的手段。任何带电离子或颗粒在电场作用下都会发生移动。多数生物分子在等电点以外的任何 pH 值下都带有净电荷,并且移动速度与电荷密度成正比。

生物分子在电场作用下的迁移率主要受以下因素影响:

- 场强
- 分子的净电荷
- 分子大小和形状
- 离子强度
- 分子所穿行的凝胶基质特性(如粘度和孔径等)

凝胶基质

常用于电泳的基质有两种:聚丙烯酰胺凝胶和琼脂糖凝胶。这两种基质属于多孔介质,作用类似于分子筛。分子的分离度取决于基质的凝胶孔径大小。琼脂糖具有大孔径,是分离核酸和蛋白复合物等大分子的理想基质。聚丙烯酰胺的孔径较小,更适合分离大多数蛋白、肽段和较小的核酸。

聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE)

聚丙烯酰胺凝胶由丙烯酰胺单体聚合而成。这些单体在添加了能与链末端的自由官能团发生反应的双官能团化合物(如N,N'-亚甲基双丙烯酰胺,bis)后,可交联成长链。凝胶的孔径大小取决于丙烯酰胺和双丙烯酰胺的浓度。丙烯酰胺的浓度越高,凝胶孔径越小,这有助于提高低分子量分子的分辨率,反之亦然。

聚丙烯酰胺凝胶电泳可通过调整如下条件, 根据不同应用需求来分离蛋白:

- 丙烯酰胺基质
- 缓冲液系统
- 电泳条件



小知识

1948 年,阿尔内·蒂塞利乌斯 (Arne Tiselius) 因血清蛋白电泳分析的杰出贡献荣获诺贝尔化学奖。

丙烯酰胺基质

线性凝胶与梯度凝胶

具有单一丙烯酰胺百分比浓度的凝胶称为线性凝胶, 丙烯酰胺浓度是某一范围的凝胶称为梯度凝胶。梯度凝胶相较于线性凝胶的优势为可在更宽的分子量范围内均匀地分离蛋白。

连续凝胶与非连续凝胶

研究人员有时会将凝胶分为连续凝胶和非连续凝胶。连续凝胶是在整个凝胶盒中采用单一丙烯酰胺溶液制作而成的凝胶。非连续凝胶则采用两种丙烯酰胺溶液制备:少量的低百分比浓缩胶(其中预留蛋白上样孔),以及大量的用于分离蛋白的分离胶。在传统的 Tris-甘氨酸蛋白凝胶系统中,浓缩胶位于高电泳迁移率的前导氯离子(存在于凝胶缓冲液中)与低电泳迁移率的甘氨酸尾随离子(存在于电泳缓冲液中)之间,蛋白在该浓缩胶中进行堆积。使用浓缩胶主要是为了提高凝胶中蛋白条带的分辨率。这些堆积的蛋白条带在进入分离胶后开始进行筛分。

小型蛋白凝胶与中型蛋白凝胶

我们提供两种规格的即用型预制胶: 小型胶和中型胶。两种凝胶的电泳距离相同, 但中型胶的尺寸更宽, 因此上样孔数量更多或上样孔容量更大。中型胶中额外增加的上样孔数量或孔径, 可以容纳更多样本数量或更高的样品体积。

缓冲液系统

电泳需要在连续或不连续的缓冲液系统中进行。连续缓冲系统使用同一种凝胶缓冲液和电泳缓冲液。不连续缓冲液系统使用不同的凝胶缓冲液和电泳缓冲液响。不连续缓冲液系统还可以使用两层孔径不同、缓冲液组分不同的凝胶层(浓缩胶和分离胶)。使用不连续缓冲液系统进行电泳可使样品在浓缩胶中堆积,从而获得更高的分辨率。

电泳条件

蛋白的分离方式取决于使用的电泳条件,下面介绍一些常见条件。

变性条件 (SDS-PAGE)

变性电泳是在使用阴离子去垢剂如十二烷基硫酸钠 (SDS) 进行变性的条件下进行的电泳。SDS 通过包裹疏水部分使蛋白变性并展开。SDS 以 1 g 蛋白对应 1.4 g SDS 的比率

结合。得到的 SDS-蛋白复合物带负电,按照分子大小在凝胶中分离。

非变性条件(天然 PAGE)

电泳是在非变性(天然)条件下,使用可以维持天然蛋白构象、亚基相互作用和生物学活性的缓冲液系统进行的电泳。在天然电泳过程中,蛋白的分离基于荷质比。

还原条件

使用还原剂,例如二硫苏糖醇 (DTT)、 β -巯基乙醇 (β -ME) 或盐酸三-(2-羧乙基)膦 (TCEP) 在还原条件下进行电泳。还原剂切割半胱氨酸残基之间的二硫键,将变性的蛋白完全展开,分解成亚基。

1D 和 2D PAGE 对比

蛋白凝胶电泳最常见的形式是采用一维 (1D) 电泳对多个样品进行比较分析。具体流程为: 将样品加入上样孔中, 施加电流分离蛋白, 然后通过染色或免疫印迹将蛋白条带的迁移情况可视化。

使用二维电泳 (2D-PAGE) 可以对单个样品的多个成分进行最彻底的解析。第一向等电聚焦 (IEF) 电泳根据蛋白的天然等电点 (pl) 分离蛋白。第二向电泳采用常规的 SDS-PAGE 根据分子量分离蛋白。2D-PAGE 可以为蛋白分析提供最高的分辨率,是蛋白组学研究中的一项重要技术。在这类研究中,有时需要在单块凝胶上解析成干上万种蛋白。本手册主要介绍一维电泳。

蛋白凝胶系统介绍

PAGE 利用不连续的缓冲液系统,在开始电泳时将样品浓缩或"堆积"到浓缩胶中非常窄的区域内。在不连续缓冲液系统中,凝胶中的主要阴离子与电泳缓冲液中的主要阴离子不同(或不连续)。Invitrogen™ Bolt™ Bis-Tris Plus 预制胶,Invitrogen™ NuPAGE™ Bis-Tris 和 Tris-乙酸预制胶,以及基于 Laemmli 系统的 Invitrogen™ Novex™ Tris-甘氨酸预制胶都是不连续缓冲液系统,具有类似的工作方式。但是,由于不同系统中的离子组成,Bis-Tris 和 Tris-乙酸系统需要在较低的 pH 值下工作。

Tris-甘氨酸系统

Tris-甘氨酸系统(图 1)主要包含如下三种离子:

凝胶缓冲液提供的氯化物(-)离子,作为前导离子(快离子),因为相对于系统中的其它阴离子,它对阳极的吸引力最高。

- 电泳缓冲液提供的甘氨酸 (-) 离子,是系统中的主要阴离子,因为这些离子仅部分带负电,并且在带电环境中始终跟随带电量更高的氯离子,因此作为尾随离子(慢离子)。
- Tris 碱 (+) 离子是一种在凝胶和电泳缓冲液中均存在的缓冲配对离子。电泳期间, Tris-甘氨酸系统中的凝胶和缓冲离子在凝胶的分离区域形成 pH 9.5 的工作环境。

Bis-Tris 系统

Bis-Tris 系统(图 2)主要包含如下三种离子。

- 由凝胶缓冲液提供的氯离子(-),作为快速移动的前导离子。
- MES 或 MOPS (-) 离子(取决于电泳缓冲液的选择),作 为尾随离子。
 - MES: 2-(N-吗啉代)乙烷磺酸
 - MOPS: 3-(N-吗啉代)丙烷磺酸

• 电泳缓冲液中提供Tris (+) 离子, 凝胶中存在的 Bis-Tris (+) 离子则为缓冲配对离子。

组合使用 pH 值较低的凝胶缓冲液 (pH 6.4) 和电泳缓冲液 (pH 7.3-7.7), 可在电泳过程中显著降低工作 pH (pH 7.0), 从而实现更好的样品完整性和凝胶稳定性。

Tris-Z酸系统

Tris-乙酸系统(图 3)主要包含如下三种离子:

- 乙酸根 (-) 离子, 来自凝胶缓冲液的前导离子
- Tricine (-) 离子,来自电泳缓冲液的尾随离子
- Tris (+) 离子, 作为缓冲配对离子(凝胶和缓冲液中均存在)

该系统的工作 pH 值也比 Tris-甘氨酸系统低得多,从而减少了凝胶引发的蛋白修饰。

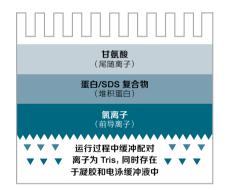


图 1.Tris-甘氨酸预制胶系统。

- 凝胶缓冲液中的离子为 Tris 和氯离子 (pH 8.7)
- 电泳缓冲液中的离子为 Tris、甘氨酸和 SDS (pH 8.3)
- 凝胶的工作 pH 值为 9.5



图 2.Bis-Tris 预制胶系统。

- 凝胶缓冲液中的离子为 Bis-Tris 和氯离子 (pH 6.4)
- 电泳缓冲液中的离子为 Tris、MES 或 MOPS、 以及 SDS (pH 7.3)
- 凝胶的工作 pH 值为 7.0

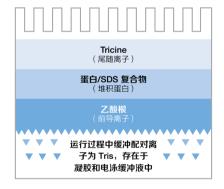


图 3.Tris-7.酸凝胶系统。

- 凝胶缓冲液中的离子为 Tris 和乙酸根 (pH 70)
- ◆ 电泳缓冲液中的离子为 Tris、Tricine 和 SDS (pH 8.3)
- 凝胶的工作 pH 值为 8.1

Tricine 系统

Tricine 系统是传统 Tris-甘氨酸凝胶系统的改进版本,使用了不连续缓冲液系统,专用于解析 2-20 kDa 范围的低分子量蛋白。通过重新配制 Laemmli 电泳缓冲液,并使用Tricine 代替甘氨酸,使 SDS -多肽在紧随前导离子前沿的位置形成,而不是与 SDS 前沿共同电泳,因此可以将它们分离为离散的条带。

选择合适的蛋白凝胶

Bis-Tris 与 Tris-甘氨酸预制胶系统的比较

对于各类蛋白的 SDS-PAGE 分离,最广泛采用的凝胶系统是 Tris-甘氨酸凝胶 (Laemmli 系统),它由浓缩胶和分离胶两部分组成,浓缩胶有助于在电泳开始运行时将蛋白压缩至一条狭窄区带,分离胶会根据蛋白分子的大小分离蛋白。这个经典的体系使用了非连续的缓冲液系统,其中电泳缓冲液(Tris, pH 8.3) 的 pH 值和离子强度不同于浓缩胶 (Tris, pH 6.8) 和分离胶 (Tris, pH 8.8) 的缓冲系统。Laemmli 系统的高碱性工作 pH 值可能会导致条带变形、分辨率降低或出现假信号(图 4)。

Laemmli 系统条带分辨率较差的主要原因是:

- 在高 pH 分离胶中, 聚丙烯酰胺水解, 导致凝胶只有 8 周的保质期
- 由于分离胶的 pH 值高,蛋白容易发生脱氨和烷基化等化学修饰
- 由于凝胶的氧化还原状态不是恒定的, 含有半胱氨酸的蛋白中已还原的二硫键被重新氧化
- 样品在 Laemmli 上样缓冲液 (pH 5.2) 中于 100 ℃ 下加热时, 蛋白的 Asp-Pro 键会断裂





Figure 4. Protein separation using (A) an Invitrogen™ Bolt™ Bis-Tris Plus gel and (B) Bio-Rad's Tris-glycine gel.

与传统的 Tris-甘氨酸预制胶系统不同,Invitrogen™ NuPAGE™ 和 Bolt™ 预制胶系统采用 Bis-Tris HCI 缓冲液 (pH 6.4),工作 pH 值约为 7.0。相比于 Laemmli 系统,Bis-Tris 预制胶系统的中性运行 pH 环境具有以下优势:

- 凝胶稳定性得到了提升,保质期延 长为 8-12 个月
- 电泳过程采用中性 pH 环境,提高 了蛋白稳定性,可带来更锐利的条 带分辨率和更准确的结果 [2]
- 在温和的加热条件下(70 ℃ 加热 10 分钟)完全还原二硫键,并且
 Asp-Pro 键不会断裂
- 电泳和免疫印迹过程中,使用 Invitrogen™ NuPAGE™ 抗氧化剂或 Invitrogen™ Bolt™ 抗氧化剂能维持蛋 白的还原状态

变性凝胶系统

Invitrogen NuPAGE Bis-Tris 和 Bolt Bis-Tris 预制胶系统都非常适合分离宽分子量范围的蛋白。

如需分离高丰度蛋白,推荐选择性能理想的 Invitrogen™ Novex™ Tris-甘氨酸预制胶系统。

基于Tris-乙酸凝胶系统的 Invitrogen™ NuPAGE™ Tris-乙酸预制胶推荐用于高分子量蛋白的电泳, 分离范围最高可达 500kDa。

Tricine 凝胶系统经过专门设计,适用于分离低分子量蛋白和肽段,是目前电泳变性分离多肽的主要方法。Invitrogen™ Novex™ Tricine 预制胶可提高分子量低至 2.5 kDa 的蛋白的分辨率。

其它凝胶系统

非变性凝胶

在非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳中,蛋白根据其天然结构的净电荷、大小和形状进行分离。由于大多数蛋白在碱性电泳缓冲液中都带有净负电荷,因此会发生电泳迁移,而负电荷密度越大的蛋白,迁移速率也越快。同时,凝胶基质具有筛分作用,会根据蛋白的大小和三维形状来调节蛋白的迁移速率。

Invitrogen™ NativePAGE™ Bis-Tris 非变性预制胶系统基于 Schägger 和 von Jagow 开发的蓝色非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳 (BN-PAGE) 技术,该技术通过提供接近中性的工作 pH 值和去垢剂兼容性,克服了传统非变性电泳的局限性。在这个特定的系统中,考马斯 G-250 染料与蛋白结合并提供净负电荷,同时将蛋白保持在天然状态。NativePAGE 预制胶旨在用于分离高分子量蛋白,最高可分离 10,000 kDa 的蛋白。

由于 NativePAGE 系统不使用变性剂,因此该系统通常能保留蛋白亚基,并且可以提供有关四级结构的信息。此外,某些蛋白在使用 NativePAGE 系统分离后仍可保留其酶促活性。如果上样和电泳缓冲液中没有 SDS,也可以使用 Tris-甘氨酸和 Tris-乙酸凝胶系统进行非变性电泳。

IEF 凝胶

等电聚焦 (IEF) 是一种根据蛋白的等电点 (pl) 而非分子量来分离蛋白的技术。蛋白的 pl 是分子表面不带净电荷且不在电场中运动时的 pH 值。这些凝胶可用于确定 pl 或检测由于脱氨、磷酸化或糖基化引起的蛋白微小变化,还可用于解析常规 SDS-PAGE 凝胶上无法分辨的大小相似的不同蛋白。

Zymogram 凝胶

Invitrogen™ Zymogram 凝胶由明胶组成,用于表征以明胶为底物的蛋白酶,例如基质金属蛋白酶、脂肪酶和其它蛋白酶。蛋白酶样品在变性条件下运行,但是由于没有还原剂,蛋白可以在适当的缓冲液中(例如 Invitrogen™ Novex™ Zymogram 复性缓冲液)进行复性。样品中的蛋白水解蛋白会在添加二价金属阳离子(例如 Invitrogen™ Novex™

Zymogram Developing 缓冲液)的情况下消耗底物,然后将凝胶染色,在底物已被消化的地方会出现透明的条带,而背景染色为蓝色。

高诵量凝胶电泳

高通量凝胶电泳扩大了给定时间内能够分析的蛋白样品数量,对于重组产物筛选和蛋白图谱解析尤为适用。

尽管中型胶比小型胶具有更高的电泳和免疫印迹通量,但专为快速、无需缓冲液的高通量蛋白分析而设计的 Invitrogen™ E-PAGE™高通量预制胶系统更胜一筹,是进行重组蛋白生产分析和蛋白谱研究的理想选择。Invitrogen™ E-PAGE™ 凝胶是即用型预制胶,凝胶基质和电极已预包装在一次性胶盒中。E-PAGE 凝胶有 48 孔和 96 孔形式。这些凝胶可搭配紧凑的自动化平台 Invitrogen™ Mother E-Base™ 设备使用。

预制胶与丰灌胶

以前,研究人员参考蛋白方法文献中广泛使用的标准配方来 手工灌注凝胶。如今,越来越多的研究人员依赖于市售的现 成预制胶,既便捷又能确保一致性。我们提供各种百分比浓 度的预制胶,包括难以手工灌注的梯度胶,梯度胶具有出色 的分辨率,并能高效分离宽分子量范围的蛋白。我们的预制 胶还提供不同的缓冲液配方选择,包括 Tris-甘氨酸、Tris-乙 酸、Bis-Tris 和 Tricine 体系,这些优化的缓冲液体系可以延 长保质期、缩短运行时间和提升蛋白分辨率。更重要的是, 使用预制聚丙烯酰胺凝胶时,无需再使用丙烯酰胺这种神经 毒素和可疑致癌物。

但是,一些科学家需要的独特凝胶配方无法以预制胶形式提供。这种情况下,可选择使用不漏液的手灌胶系统(例如 Invitrogen™ SureCast™ 手灌胶系统)或使用预组装的空凝胶盒,让手工灌胶的过程变得更简单。

选择合适的凝胶浓度

丙烯酰胺或琼脂糖浓度的选择取决于待分离分子的大小。分离较大的分子时应使用浓度较低的凝胶,分离较小的分子时应使用浓度较高的凝胶。等电聚焦是个例外,不适用于这个规则。请参阅本章中的凝胶迁移图,找到最适合您实验应用的凝胶。通常分子的迁移距离约为凝胶长度的70%时,可以获得最佳分辨率。当蛋白分子量范围很宽或未知时,梯度凝胶通常是最佳选择。

选择上样孔规格和凝胶厚度

常用的凝胶类型有两种厚度 (1.0 毫米和 1.5 毫米)。如果样品的上样体积大 (>30 µL),使用更厚 (1.5 mm) 且孔数更少 (例如 5 孔)的凝胶较为适合。对于大体积样品,也可以选择带有楔形上样孔的 Bolt Bis-Tris Plus 或 Novex Tris-甘氨酸预制胶。请记住,在做免疫印迹时,蛋白从 1.0 毫米厚的凝胶中迁移比从 1.5 毫米厚的凝胶中迁移更为容易。我们绝大部分的预制胶都提供以下九种上样孔规格选择 (17 孔、15 孔、12 孔、10 孔、9 孔、5 孔、1 孔、2D/制备孔、IPG 孔)。





小知识

早在 45 年前, Ulrich K. Laemmli 发表的文章中就首次使用了 SDS-PAGE 方法来裂解分析噬菌体 T4 中的结构蛋白。



蛋白凝胶选择指南

从这里开始

请参考下表,根据样品类型、电泳类型和分子量选择凝胶。为了帮您根据实验需求选择最适合的凝胶,请使用我们的在线产品选择工具,网址为 thermofisher.com/proteingelguide。如果您想用 Invitrogen™ 凝胶替换当前其它供应商提供的预制胶,请浏览 thermofisher.com/proteingelconversion。

| 变性分离* | | | | | | | |
|---------------------------------|--|-------------------------|---------------|--|--|--|--|
| | 样品类型 | | | | | | |
| 分子量范围 | | 度蛋白和 多饰的蛋白 | 高丰度蛋白 | | | | |
| | Bis-Tris | 预制胶系统 | Tris-甘氨酸预制胶系统 | | | | |
| 宽分子量范围的蛋白 (6-400 kDa) | Bolt Bis-Tris Plus 小型预制胶 (上样量可达 60 μL) | NUPAGE Novex Tris-甘氨酸预制 | | | | | |
| | Tris-乙酸凝胶系统 | | | | | | |
| 高分子量蛋白 (40-500 kDa) | NuPAGE Tris-乙酸小型预制胶 | | | | | | |
| | Tricine 凝胶系统 | | | | | | |
| 低分子量蛋白 (2.5–40 kDa) | Novex Tricine 小型预制胶 | | | | | | |

^{*}上标适用于低通量应用。对于中等通量或高通量应用,推荐 Invitrogen™ E-PAGE™ 48 孔或 96 孔凝胶 thermofisher.com/specialtygels

| | 非变性分离 | | | | | |
|-----|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|--|--|--|
| | | 分子量 | 等电点 | | | |
| 第一向 | NativePAGE Bis-Tris 预制胶 | Novex Tris-甘氨酸预制胶 | NuPAGE Tris-乙酸预制胶 | Novex IEF 凝胶 | ZOOM IPG 胶条 | |
| 第二向 | NuPAGE Bis-Tris 预制胶, 2D 孔 | Novex Tris-甘氨酸 预制胶, 2D 孔 | Novex Tris-甘氨酸 预制胶, 2D 孔 | Novex Tris-甘氨酸 预制胶, 2D 孔 或 NuPAGE Bis-Tris 预制胶, 2D 孔 | Novex Tris-甘氨酸 ZOOM 凝胶, IPG 孔 或 NuPAGE Bis-Tris ZOOM 凝胶, IPG 孔 | |

蛋白酶活性

Novex Zymogram 凝胶(明胶底物)

蛋白凝胶性能保障

我们为高性能蛋白凝胶提供质量保障,请您放心购买 Invitrogen 蛋白预制胶系列产品。如果所用 Invitrogen 蛋白预制胶无法实现网站或分析证书(CoA)所述效果,我们将免费为您更换产品,或者为您提供相应的售后服务。



如需获取关于蛋白预制胶性能保障的更多信息,请浏览 thermofisher.com/proteingelguarantee

蛋白预制胶迎新套装

我们的蛋白预制胶迎新套装是您获取出色蛋白分离结果的省心利器,小型胶和中型胶均有迎新套装可供选择。通常,蛋白预制胶迎新套装包含电泳所需的全部必要工具,包括·

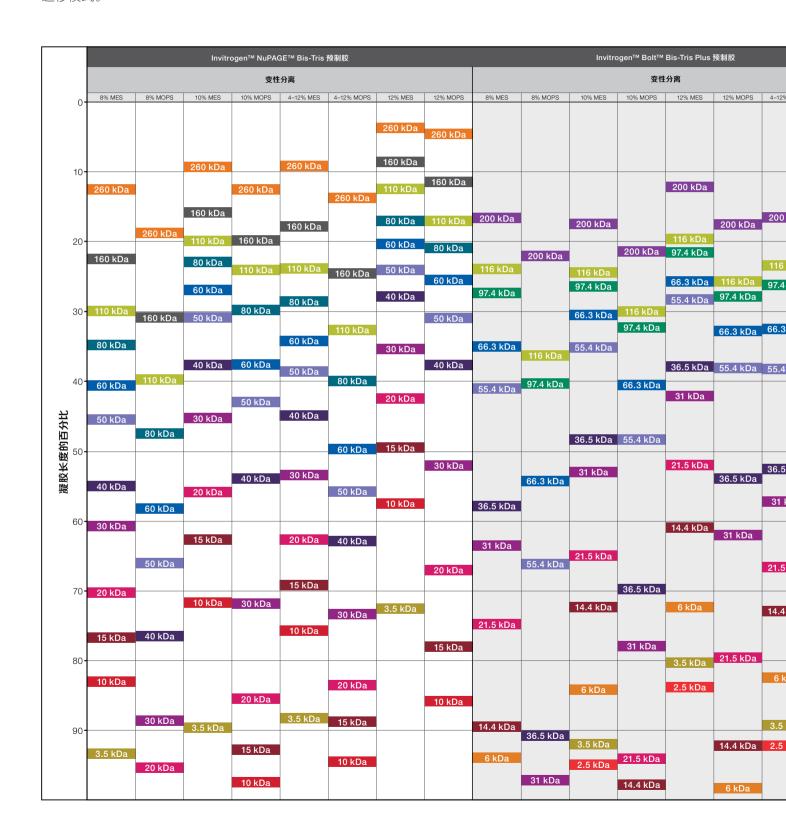
- Invitrogen™ 小型胶槽或 Invitrogen™ SureLock™ Tandem 中型胶槽
- Invitrogen™ 小型预制胶或中型预制胶
- 电泳缓冲液
- SDS 上样缓冲液
- Invitrogen™ Bolt™ 或 NuPAGE™ 样品还原剂 (10X)
- 预染蛋白分子量标准



了解蛋白预制胶迎新套装,请浏览 thermofisher.com/proteingelwelcome

蛋白小型凝胶迁移图

使用此图可以比较各种分子量的蛋白在 Invitrogen™ 蛋白预制胶产品系列中的 迁移模式。



| | | Invitroge | n™ Novex™ T | ris-甘氨酸预制 | 則胶, WedgeW | ell™ 形式 | | ™ NuPAGE™ 發预制胶 | Invitroger | າ™ Novex™ Trie | cine 预制胶 | NuP Tris-Z | | Invitro NativePAC | ogen [™] GE™ 预制胶 |
|-------|------------|-----------|-------------|-----------|------------|---------|---------|--------------------------|--------------------|----------------|----------|---------------|-----------|----------------------|------------------------------|
| | | | | 变性分离 | | | 变性 | 分离 | 印 <u>迹</u> 和 测序 | 合成肽和胰 蛋白酶分析 | 宽范围分离 | 非变性 | 生分离 | 非变性 | 生分离 |
| 6 MES | 4-12% MOPS | 10% | 12% | 4-12% | 8-16% | 4-20% | 3-8% | 7% | 10% | 16% | 10-20% | 3-8% | 7% | 3-12% | 4-16% |
| | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | 1,048 kDa |
| | | | | | | | | 500 kDa | | 200 kDa | | | 1,048 kDa | | |
| | | | | | | | | | | 116 kDa | | | | | |
| kDa | | | | | | | 500 kDa | 290 kDa 240 kDa | 200 kDa | 97 kDa | | 1,048 kDa | | 1,236 kDa | |
| | 200 kDa | | 200 kDa | | | | | | 200 KDa | 66 kDa | | | | | 720 kDa |
| kDa | 200 KDa | 200 kDa | | | | | | | | 55 kDa | 200 kDa | | | 1,048 kDa | 720 KBa |
| kDa | | 200 KDa | | | | 200 kDa | | 160 kDa | 116 kDa | | | | | | |
| | | | | | 200 kDa | | 290 kDa | | 97 kDa | 36 kDa | 116 kDa | | 720 kDa | | |
| kDa. | 440 | | 116 kDa | | | | 240 kDa | 11010 | | 31 kDa | 97 kDa | | | | 480 kDa |
| RBa | 116 kDa | 116 kDa | 97 kDa | | | 116 kDa | | 116 kDa | 66 kDa | | 66 kDa | | | | |
| kDa | 97.4 kDa | 97 kDa | | 200 kDa | | 97 kDa | | 97 kDa | | | 55 kDa | | | 720 kDa | |
| NDU | | or RBa | 66 kDa | | | | | | 55 kDa | 21 kDa | JO KDQ | | | 720 KDa | |
| | | | oo noa | | 116 kDa | 66 kDa | 160 kDa | | | | | | 480 kDa | | |
| | | | | | 97 kDa | | 100 KBa | | | 14 kDa | | 720 kDa | | | 242 kDa |
| | 66.3 kDa | 66 kDa | 55 kDa | | | 55 l-D- | | | | | 36 kDa | | | | |
| kDa | | | | | | 55 kDa | | 66 kDa | | | 31 kDa | | | 480 kDa | |
| NDU | | | | 116 kDa | 66 kDa | | 116 kDa | | | | JIKDA | | | | 146 kDa |
| кDа | 55.4 kDa | 55 kDa | | 97 kDa | 5510 | 001-0 | 97 kDa | | 36 kDa | 01-0- | 04 D | | | | |
| | 00.1 KBa | | 001.0 | | 55 kDa | 36 kDa | | | 31 kDa | 6 kDa | 21 kDa | | | | |
| | | | 36 kDa | | | | | 55 kDa | | | 14 kDa | | | 242 kDa | |
| kDa | | | | 66 kDa | | 31 kDa | 66 kDa | | | | | | | | 66 kDa |
| | | | | | | | | | | 3.5 kDa | | 480 kDa | | | |
| kDa | | | 31 kDa | 55 kDa | 36 kDa | | | | 21 kDa | 2.5 kDa | | | | | |
| | 36.5 kDa | | | JJ KDA | 31 kDa | 21 kDa | 55 kDa | | | | 6 kDa | | 242 kDa | 146 kDa | |
| | | 36 kDa | | | | | 33 KDa | 40 kDa | | | | | | | |
| | 31 kDa | | | | | | | | 14 kDa | | | | | | |
| Da | | | | 36 kDa | 21 kDa | 14 kDa | 40 1-8 | | | | 3.5 kDa | | | 66 kDa | |
| | | 31 kDa | 21 kDa | | | | 40 kDa | | | | 2.5 kDa | | | | |
| kDa | | - ST KDa | | 31 kDa | 14 kDa | 6 kDa | | | | | | 242 kDa | | | 20 kDa |
| kDa | 21.5 kDa | | | | | | | | | | | 242 KDa | | | |
| | 14.4-kDc | | | | | | | | 6 kDa | | | | | | |
| | 14.4 kDa | | 14 kDa | 21 kDa | | | | | | | | | 146 kDa | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | |

Bolt Bis-Tris Plus 和 NuPAGE Bis-Tris 预制胶

专为最佳分离效果打造的中性 pH 凝胶系统

Bolt Bis-Tris Plus 和 NuPAGE Bis-Tris 凝胶是聚丙烯酰胺 预制胶,经过专门设计,适合在变性条件下通过凝胶电泳对宽分子量范围的蛋白实现最佳分离(图 6-图 10)。这些凝胶可以在中性 pH 环境中提供稳定的性能,最大程度地减少蛋白降解,产生更锐利的条带,避免常见的"微笑"条带。另外,分离低丰度蛋白时,保持蛋白完整性尤为重要。Bolt Bis-Tris Plus 预制胶的独特楔形孔设计(图 5)使上样体积可达其它凝胶的两倍。Bolt Bis-Tris Plus 和 NuPAGE Bis-Tris 预制胶非常适合用于免疫印迹中的蛋白转印和分析,以及其他对蛋白完整性要求高的下游应用,例如质谱分析。Bolt Bis-Tris Plus 凝胶为小型胶形式,NuPAGE Bis-Tris 预制胶有小型胶和中型胶形式,以及两种厚度选择。



图 5.Bolt Bis-Tris Plus 凝胶的独特楔形孔设计。 WedgeWell 楔形孔设计可实现更大的上样量, 也令上样更轻松。



Bolt Bis-Tris Plus 和 NuPAGE Bis-Tris 预制胶的优势:

- 保持蛋白完整性 中性 pH 体系可最大程度减少蛋白修 饰(图 8)
- **出色的条带质量** Bis-Tris 预制胶系统经过优化, 可提供 更锐利且平直的条带
- **批次间一致性高** Rf 值(比移值)的变异系数(CV)仅为2%,提高结果重复性
- **后续蛋白转印更高效** 中性 pH 环境可防止蛋白转印过程中已经还原的样品被再次氧化
- 上样体积高 Bolt Bis-Tris 小型胶的楔形孔设计适用于 检测极稀样品中的蛋白或分析低丰度蛋白





图 6. Bolt Bis-Tris Plus 凝胶电泳。将 10 μL 蛋白标准品和样品上样至 Bolt 4–12% Bis-Tris Plus 凝胶。使用小型胶槽在 200 V(恒定)电压下进行电泳。使用 Invitrogen™ SimplyBlue™ SafeStain 染色后,可以观察到迁移模式一致、锐利且平直的条带。使用平板扫描仪获取图像。泳道 1: Invitrogen™ SeeBlue™ Plus2 预染标准品; 泳道 2: 10 μg 大肠杆菌裂解物; 泳道 3: Invitrogen™ Mark12™ 非预染标准品(12 种纯化蛋白的混合物); 泳道 4: 40 μg HeLa 细胞裂解物; 泳道 5: 20 μg HeLa 细胞裂解物; 泳道 6: 5 μg BSA; 泳道 7: 40 μg Jurkat 细胞裂解物; 泳道 8: 5 μg GST 融合蛋白; 泳道 9: Invitrogen™ Novex™ Sharp 非预染蛋白标准品; 泳道 10: 5 μg β-半乳糖苷酶。

点击**此处**观看视频,了解 Invitrogen 凝胶的使用有多么简单。 点击**此处**,查看 NuPAGE Bis-Tris 小型胶的快速参考方案。

获取更多信息,请浏览 thermofisher.com/nupage

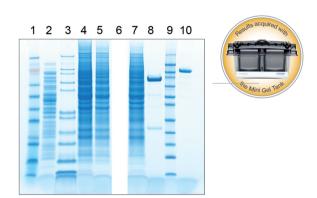
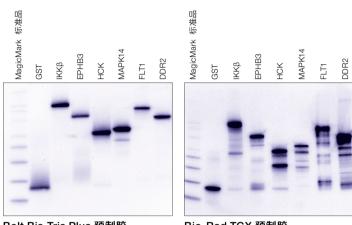


图 7. 使用NuPAGE Bis-Tris 预制胶的电泳效果示例。将 10μ L 蛋白标准品和样品上样至 ™ NuPAGE™ 4–12% Bis-Tris 预制胶,使用小型胶槽在200 V(恒定)电压下进行电泳,随后使用SimplyBlue SafeStain 染色,可观察到锐利且平直的条带,最终使用平板扫描仪获取图像。**泳道 1:** SeeBlue Plus2 预染标准品; **泳道 2:** 10μ g 大肠杆菌裂解物; **泳道 3:** Mark12 非预染标准品 (12 种纯化蛋白混合物); **泳道 4:** 40μ g HeLa 细胞系裂解物; **泳道 5:** 20μ g HeLa 细胞系裂解物; **泳道 6:** 未使用; **泳道 7:** 40μ g Jurkat 细胞系裂解物; **泳道 8:** 5μ g GST 融合蛋白; **泳道 9:** Novex Sharp 非预染蛋白标准品; **泳道 10:** 5μ g β -半乳糖苷酶。



Bolt Bis-Tris Plus 预制胶 Bio-Rad TGX 预制胶

图 8.Bolt Bis-Tris Plus 小型预制胶可帮助获取更好的免疫印迹结果。Bolt 凝胶的免疫印迹结果显示干净锐利的蛋白信号,而且蛋白完整无降解,但是Bio-Rad™ TGX™ 凝胶的免疫印迹结果显示多个低分子量降解产物。在 Bolt Bis-Tris Plus 凝胶和 Bio-Rad TGX Tris-甘氨酸凝胶上分析与癌症相关的蛋白激酶 (IKKβ、EPHB3、HCK、MAPK14、FLT1和DDR2): 首先将纯化的激酶(每种50 ng)、Invitrogen™ MagicMark™ XP Western 蛋白标准品和纯化的重组 GST 蛋白上样至10孔4-12%的 Bolt 凝胶和10孔4-20%的 Bio-Rad TGX 凝胶,然后按照各制造商的方案进行电泳分离后转印到0.45 μm PVDF膜上,随后使用GST 抗体和 Invitrogen™ WesternBreeze™ 化学显色法检测试剂盒进行印迹检测,最终使用成像系统对印迹进行成像。

已有超过 2 万篇论文引用了我们的 NuPAGE Bis-Tris 预制胶。



Bolt Bis-Tris Plus 小型预制胶的规格

- 保质期: 16 个月
- 电泳时间: 最快 20 分钟
- 分离范围: 0.3-260 kDa
- 聚丙烯酰胺浓度: 固定浓度 8%、10%
 和 12%; 梯度浓度 4-12%
- 凝胶尺寸: 8 x 8 cm (厚度为 1 毫米)
- 10 孔胶的每孔最大上样体积: 约 60 µL,或样品孔体积的 2/3

"

Bolt™ 系统真是太棒了。我至今依然感到惊讶,居然能在 23 分钟内就跑完一块PAGE 凝胶。无论是方便上样的 Bolt™楔形孔预制胶还是小型胶槽系统,使用起来都非常简单。最终的免疫印迹条带锐利且平直。我非常推荐蛋白研究人员使用。

一Crystal M., 加拿大某大学

在我们的一个实验项目中,我们 采用电泳解析蛋白,以此确定蛋 白酶抑制剂处理后累积的泛素化 蛋白。当我们使用 Tris-甘氨酸预 制胶解析泛素化蛋白时,我们观 察到的是弥散条带。但当我们使 用 Bolt Bis-Tris 预制胶解析泛素 化蛋白时,我们非常欣喜,因为可 以观察到单个蛋白条带,而不是弥 散条带。

一Susan S., 美国某大学

Bolt Bis-Tris Plus 预制胶

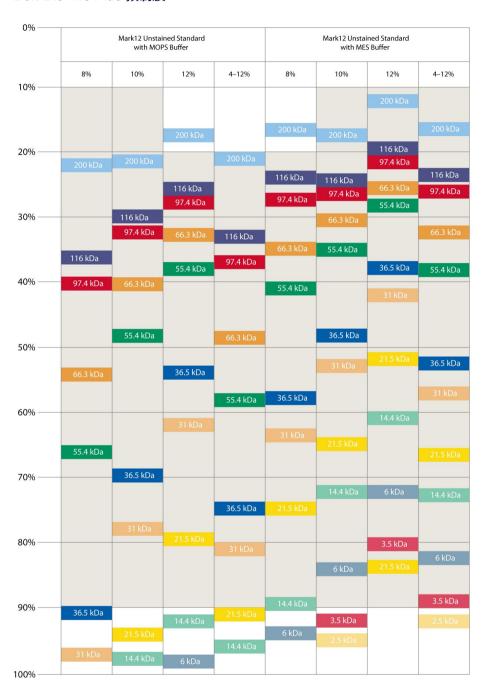


图 9.Bolt Bis-Tris Plus 预制胶迁移图。最佳分离范围如灰色区域所示。



NuPAGE Bis-Tris 预制胶的规格

- 保质期: 12 个月
- 电泳时间: 最快 35 分钟
- 分离范围: 1.5-300 kDa
- 聚丙烯酰胺浓度:固定浓度 8%、10%
 和 12%
- 梯度浓度 4-12%
- 凝胶尺寸.
 - 小型胶: 8 x 8 cm (厚度为 1 毫米或 1.5 毫米)
 - 中型胶: 8 x 13 cm (厚度为 1 毫 米)
- 10 孔小型胶的每孔最大上样体积: 25 μL(1 毫米厚度的胶); 37 μL(1.5 毫 米厚度的胶)

推荐产品

Thermo Scientific™ PageRuler™,
PageRuler™ Plus,Spectra™ 预
染蛋白分子量标准,推荐与
NuPAGE Bis-Tris 预制胶一起使用,
方便测定分子量。

电泳后使用**考马斯染料、银染或荧光蛋白染料**来显示条带(请参阅第63页的"凝胶染色")。



小知识

1996 年, Timothy Updyke 和
Sheldon Engelhorn 申请了中性 pH
Bis-Tris 预制胶系统的专利。

Bolt Bis-Tris Plus 预制胶

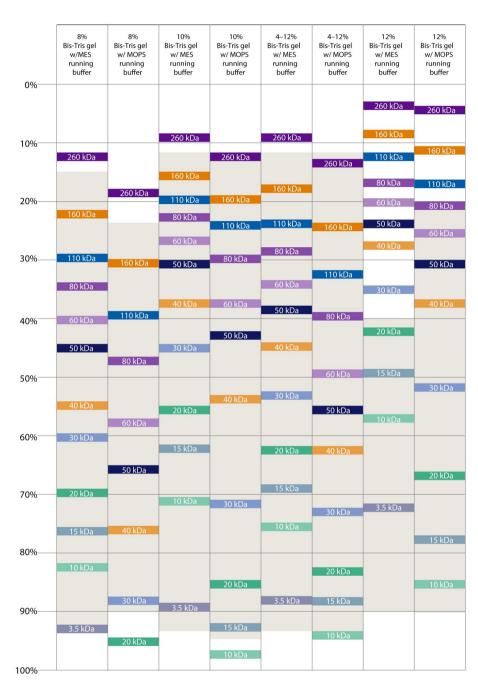


图 10. Invitrogen™ Novex™ Sharp™预染蛋白标准品或 Novex™ Sharp™非预染蛋白标准品在 NuPAGE Bis-Tris 预制胶中的迁移模式。最佳分离范围如灰色区域所示。

点击此处, 查看 NuPAGE Bis-Tris 小型胶的快速参考指南。

Novex Tris-甘氨酸预制胶

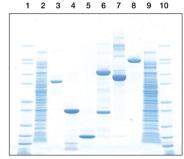
上样量可达 60 µL

Invitrogen™ Novex™ Tris-甘氨酸 WedgeWell™ 楔形孔小型胶和 Invitrogen™ Novex™ Tris-甘氨酸 Plus 中型胶都是基于传统 Laemmli 聚丙烯酰胺凝胶改良而来,可以搭配 Laemmli 上样和电泳缓冲液一起使用。Novex Tris-甘氨酸预制胶具有高质量的性能,能将更宽范围的蛋白进行高效解析(图 11 和 12)。

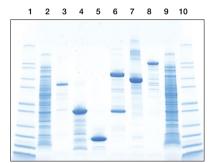
亮点:

- **楔形上样孔** 小型胶也可轻松上样多达 60 µL 的样品, 是稀释蛋白样品电泳的理想选择
- 高性能 出色的蛋白条带分辨率和锐利度
- **保质期更长** 在 4 ℃ 下凝胶可保存长达 12 个月
- 快速电泳 恒压下可在 60 分钟内快速分离蛋白
- 灵活 一 可用于天然和变性蛋白的电泳





Novex 4-20% Tris-甘氨酸小型胶, 楔形上样孔



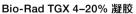




图 11. Novex Tris-甘氨酸小型胶(WedgeWell 上样孔)能够使蛋白分辨率更高、条带更锐利。将蛋白分子量标准、纯化的蛋白和大肠杆菌裂解物上样至梯度 Novex 4-20% Tris-甘氨酸小型胶(WedgeWell 上样孔)和 Bio-Rad TGX 4-20% 梯度胶上。结果, Bio-Rad TGX 凝胶在泳道 3、4、7、8 的主要条带下方显示了许多低分子量蛋白降解产物,而在 Novex Tris-甘氨酸预制胶中没有看到。与 Bio-Rad 凝胶相比,Novox 凝胶显示的蛋白条带更锐利、裂解物分辨率更高。**泳道 1、10**:5 μL Mark12 非预染标准品; **泳道 2**:10 μg 大肠杆菌裂解物; **泳道 3**:6 μg 过氧化氢酶; **泳道 4**:6 μg 碳酸酐酶; **泳道 5**:6 μg 溶菌酶; **泳道 6**:6 μg hlgM; **泳道 7**:6 μg BSA; **泳道 8**:6 μg β-半乳糖苷酶; **泳道 9**:20 μg 大肠杆菌裂解物。泳道 2-9 的上样量为 10 μL。

点击此处, 查看 Novex Tris-甘氨酸小型胶(楔形上样孔)的快速参考方案。

获取更多信息, 请浏览 thermofisher.com/novexwedge

Novex Tris-甘氨酸预制胶的规格

- 保质期: 4 ℃ 下可保存 12 个月
- 电泳时间: 60 分钟
- 分离范围: 8 kDa 260 kDa
- 聚丙烯酰胺浓度.
 - 固定浓度 6%、8%、10%、12%、14%、16%;
 - 梯度浓度 4-12%、4-20% 、8-16%、10-20%
- 凝胶尺寸:
 - 小型胶: 8 x 8 cm (厚度为 1 毫 米)
 - 中型胶: 8 x 13 cm (厚度为 1 毫 米)
- 最大上样体积:
 - 10 孔小型胶, 楔形孔: 60 μL
 - 20 孔中型胶,标准上样孔: 25 μL

Novex Tris-甘氨酸预制胶

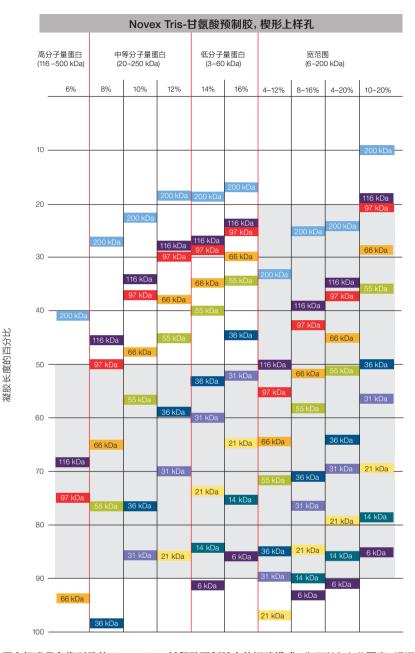


图 12.蛋白标准品在楔形孔的 Novex Tris-甘氨酸预制胶上的迁移模式。您可以参考此图表,根据分子量大小选择合适的凝胶来分离蛋白。当蛋白条带在阴影区域内迁移时,可获得最佳分辨率。此处使用的标准品是变性条件下的 Mark12 非预染标准品。

推荐产品

对于电泳前的样品除杂步骤,推荐使用 Thermo Scientific ™ Pierce™ SDS-PAGE 样品制备试剂盒。

适用于变性蛋白的缓冲液: Invitrogen™ Novex™ Tris-甘氨酸 SDS 上样缓冲液和 Tris-甘氨酸 SDS 电泳缓冲液。

适用于非变性蛋白的缓冲液: Invitrogen™ Novex™ Tris-甘 氨酸非变性上样缓冲液和 Tris-甘氨酸非变性电泳缓冲液。

使用 Novex Tris-甘氨酸预制胶估算分子量时,推荐使用 PageRuler、PageRuler Plus 和 Spectra 预染蛋白分子量 标准。

NuPAGE Tris-乙酸预制胶

高分子量蛋白分离首选

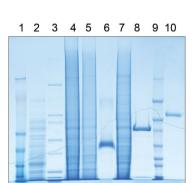
Tris-乙酸凝胶可以实现高分子量蛋白的最佳分离。NuPAGE Tris-乙酸预制胶的 pH 为 8.1, 可最大程度地减少蛋白修饰并产生更锐利的条带。NuPAGE Tris-乙酸预制胶也可以搭配 Novex Tris-甘氨酸非变性电泳缓冲液一起电泳, 分离天然蛋白的效率比 Tris-甘氨酸预制胶的更高。

NuPAGE Tris-乙酸预制胶和缓冲液经过专门设计, 具备以下优势:

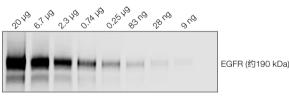
- 实现高分子量蛋白的最佳分离(图 13 和 15)
- 样品制备步骤经过优化,可以保留蛋白样品的完整性
- 后续蛋白转印更高效 中性 pH 体系可防止蛋白转印过程中已经还原的样品被再次氧化(图 14)

性能和规格

- 保质期: 8 个月
- 电泳时间: 60 分钟(变性电泳), 2小时(非变性电泳)
- 分离范围: 30-400 kDa
- 聚丙烯酰胺浓度: 固定浓度 7%; 梯度浓度 3-8%
- 凝胶尺寸:
 - 小型胶: 8 x 8 cm (厚度为 1 毫米或 1.5 毫米)
 - 中型胶: 8 x 13 cm (厚度为 1 毫米)
- 10 孔小型胶的每孔最大上样体积: 25 μL(1 毫米厚度的 胶); 37 μL(1.5 毫米厚度的胶)







NuPAGE 3-8% Tris-乙酸小型胶



Novex 4-20% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 形式

图 14.高分子量蛋白的转印优化提高了免疫印迹检测的灵敏度。该结果是对 A431 裂解物中的 EGFR 进行免疫印迹分析, 分别使用 Novex 4-20% Tris-甘氨酸小型胶 (WedgeWell 形式) 和 NuPAGE 3-8% Tris-乙酸小型胶电泳, 然后使用 iBlot 2 干转系统进行转印。

A NuPAGE Tris-乙酸预制胶 (变性分离) B NuPAGE Tris-乙酸预制胶 (非变性分离) (非变性分离)



图 15.NuPAGE Tris-Z酸预制胶中的迁移模式。为获得最佳结果,蛋白条带应在灰色阴影区域内迁移。(A)变性条件下,Invitrogen™ HiMark™ 非预染蛋白标准品在 NuPAGE Tris-乙酸预制胶上的迁移模式。(B) 非变性条件下,Invitrogen™ NativeMark™ 非预染蛋白标准品在 NuPAGE Tris-乙酸预制胶上的迁移模式。

点击此处, 查看 NuPAGE Tris-乙酸小型胶的快速参考方案。

获取更多有关 NuPAGE Tris-乙酸胶的信息, 请浏览 thermofisher.com/trisacetate

推荐产品

Invitrogen[™] HiMark[™] 非预染和预染蛋白标准品经过专门设计,适用于在变性条件下使用 NuPAGE Tris-乙酸预制胶进行高分子量蛋白的分析。两种标准品都以即用型产品形式提供,包含 9 个蛋白条带,分子量范围为 40-500 kDa。

Novex Tricine 预制胶

用于多肽分析和低分子量蛋白的高分辨率凝胶

Invitrogen™ Novex™ Tricine 凝胶系统是 Tris-甘氨酸系统的升级版,使用三甲基甘氨酸 (Tricine) 替代了电泳缓冲液中的甘氨酸。所采用的不连续缓冲液系统专门适用于解析低分子量蛋白(图 16)。

Novex Tricine 预制胶相对于 Tris-甘氨酸预制胶的优势:

- 适用于分子量低至 2 kDa 的蛋白, 电泳分辨率更高(图 17)
- 转移至 PVDF 膜后可直接应用于蛋白测序, 兼容性更好
- Tricine 缓冲液系统的 pH 值较低, 因此发生蛋白修饰的概率 极低

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

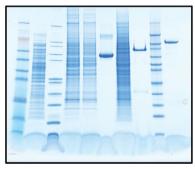




图 16.Novex Tricine 预制胶电泳效果示例。将 10 μL 蛋白标准品和样品上样到 Invitrogen™ Novex™10-20% Tricine 蛋白预制胶上。使用小型胶槽在 200 V(恒定)电压下进行电泳。SimplyBlue SafeStain 染色后观察到锐利且平直的条带。使用平板扫描仪获取图像。泳道 1: SeeBlue Plus2 预染标准品; 泳道 2: 10 μg 大肠杆菌裂解物; 泳道 3: Mark12 非预染标准品(12 种纯化蛋白的混合物); 泳道 4: 40 μg HeLa 细胞裂解物; 泳道 5: 20 μg HeLa 细胞裂解物; 泳道 6: 5 μg BSA; 泳道 7: 40 μg Jurkat 细胞裂解物; 泳道 8: 5 μg GST 融合蛋白; 泳道 9: Novex Sharp 非预染蛋白标准品; 泳道 10: 5 μg β-半乳糖苷酶。

小知识

Novex Tricine 凝胶的工作原理

在传统的 Tris-甘氨酸蛋白凝胶系统中, 低分子量蛋白 (<10 kDa) 条带的分辨率不甚理想, 这是因为SDS 样品 和浓缩胶电泳缓冲液中的游离十二烷基硫酸盐 (DS) 离子连续堆积, 导致低分子量蛋白和 DS 离子混合,造成条带模糊且分辨率降低。混合物还会干扰低分子量蛋白的固定和染色。Novex Tricine 凝胶系统采用低pH 值的凝胶缓冲液,并在电泳缓冲液中使用三甲基甘氨酸 (Tricine) 替代甘氨酸。因此,在Tris-甘氨酸凝胶系统中,低分子量蛋白、多肽与堆积的 DS 离子一同迁移,而在Novex Tricine 凝胶系统中他们可与 DS 离子很好地分离,从而获得更锐利的条带和更高的分辨率。

点击此处, 查看 Novex Tricine 凝胶方案。

获取更多信息,请浏览 thermofisher.com/tricine

Novex Tricine 预制胶

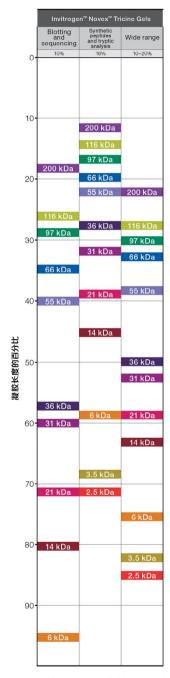


图 17.Novex Tricine 预制胶迁移图。为获得最佳分辨率,蛋白条带应在阴影区域内迁移。

推荐产品

推荐搭配使用 Novex Tricine 预制胶和 Thermo Scientific™ 胶内胰蛋白酶消化试剂盒来分离和酶解多肽,以进行下游质谱分析。



NativePAGE Bis-Tris 非变性预制胶

为天然蛋白和蛋白复合物的分析带来出众的分辨率

Invitrogen™ NativePAGE™ Bis-Tris 预制胶系统是基于蓝色非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳 (BN-PAGE) 技术研发而成,使用考马斯 G-250 染料作为电荷转移分子与蛋白结合,并在不使蛋白变性的情况下携带负电荷(图 18)。该技术克服了传统非变性电泳的局限性,使工作 pH 值接近中性并兼容多种去垢剂。电泳期间,NativePAGE 凝胶系统的近中性 (pH 7.5) 环境可确保蛋白和凝胶基质的稳定性,而且与其它非变性凝胶系统相比,具有更高的条带分辨率。凝胶迁移模式如图 19 所示。

NativePAGE 非变性预制胶系统的优势:

- 更宽分子量范围的蛋白分离 15 kDa 10 Mda 甚至更高, 无需考虑等电点
- 中性 pH 分离 更好地保留蛋白复合物的天然状态
- **出众的性能** 其分辨率优于使用 Tris-甘氨酸凝胶的非变性电泳效果





图 18.NativePAGE 凝胶电泳结果示例。使用小型电泳槽和 Invitrogen[™] NativePAGE[™] 3-12% Bis-Tris 蛋白凝胶,将蛋白提取物稀释 2 倍后进行凝胶电泳。电泳后,先用考马斯染料染色,然后使用平板扫描仪成像。**泳道 1、10**:空白;**泳道 2、6**:5 µL NativeMark 非预染蛋白标准品;**泳道 3-5**:分别为 10 µg、5 µg、2.5 µg 菠菜叶绿素提取物;**泳道7-9**:分别为 10 µg、5 µg、2.5 µg 牛线粒体提取物。

NativePAGE 预制胶

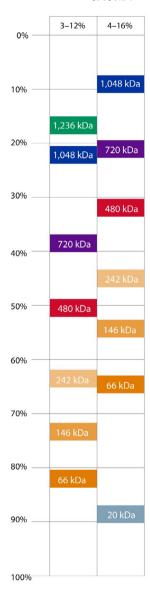


图 19. NativePAGE 凝胶迁移图。显示了非变性蛋白标准品在 NativePAGE 凝胶上的迁移模式。



小知识

蓝色天然聚丙烯酰胺凝胶电泳技术是在 1991 年,由 Hermann Schägger 和 Gebhard von Jagow 所研发。

点击此处, 查看 NativePAGE Bis-Tris 预制胶的方案。

获取更多信息,请浏览 thermofisher.com/nativepage

Novex IEF 凝胶

用于等电点测定的预制胶

等电聚焦 (IEF) 是一种根据蛋白等电点 (pl) 分离蛋白的电泳技术。pl 是指蛋白分子不带净电荷且在电场中不再运动时的pH 值。Invitrogen™ Novex™ IEF 凝胶可以有效地产生 pH 梯度,使得蛋白按照各自的 pl 分离开来 (图 20 和 21)。这些凝胶可用于 pl 测定,或者检测由于脱氨、磷酸化或糖基化而引起的蛋白微小变化,或者解析大小相似的不同蛋白,而这些蛋白无法在常规的 SDS-PAGE 凝胶上分离。

当搭配我们便捷、优化的缓冲液、溶剂和分子量标准一起使用时, Novex IEF 凝胶具备以下优势:

- 实现准确的 pl 测定
- 干净、锐利的条带, 易于鉴定蛋白修饰
- Novex IEF 凝胶结合 SDS-PAGE 用于 2D 电泳时, 具有更高的分辨率, 能更清晰地分辨蛋白的细微差异

性能和规格

- 保质期: 2 个月
- 平均电泳时间: 2.5 小时
- 分离范围:
 - pH 3-10 凝胶: pl 范围为 3.5-8.0
 - pH 3-7 凝胶: pl 范围为 3.0-7.0
- 聚丙烯酰胺浓度: 固定浓度 5%
- 凝胶尺寸: 8 x 8 cm (厚度为 1 毫米)
- 10 孔凝胶的每孔最大上样体积: 20 µL

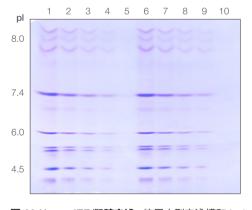




图 20.Novex IEF 凝胶电泳。使用小型电泳槽和 Invitrogen Novex PH 3-10 IEF 蛋白凝胶上重复运行 2 倍梯度稀释的 Invitrogen IEF Marker 3-10。IEF Marker 3-10 由具有各种等电点的蛋白组成; 这些蛋白包括凝集素 (pl = 7.8、pl = 8.0 和pl = 8.3)、马肌肉的肌红蛋白 (pl = 6.9 和 pl = 7.4)、牛红细胞的碳酸酐酶 (pl = 6.0)、牛乳的 β -乳球蛋白 (pl = 5.2 和 pl = 5.3))、大豆胰蛋白酶抑制剂 (pl = 4.5) 和葡萄糖氧化酶 (pl = 4.2)。电泳后,将凝胶固定并用考马斯 R-250 染料染色。用平板扫描仪进行凝胶成像。IEF Marker3-10 的上样量: **泳道 1、6**: 20 µL; **泳道 2、7**: 10 µL; **泳道 3、8**: 5 µL; **泳道 4、9**: 2.5 µL; **泳道 5、10**: 空白。

25

获取更多信息, 请浏览 thermofisher.com/ief

Novex IEF 凝胶

在垂直电泳预制胶系 统上分离

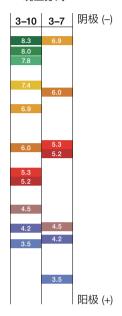
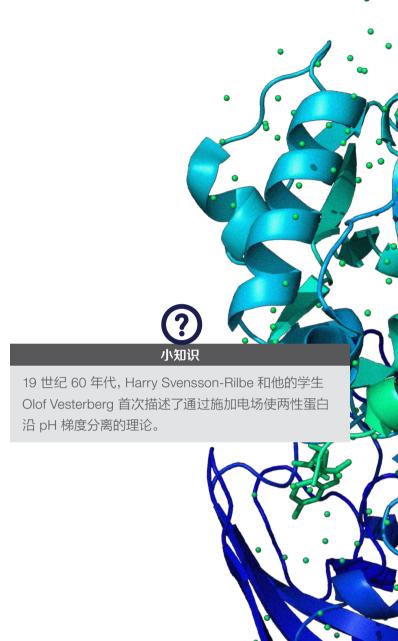


图 21. IEF Marker 在 Novex IEF 凝胶中的迁移模式。显示的蛋白分别为淀粉葡糖苷酶 (黑曲霉),pl=3.5; 葡萄糖氧化酶 (黑曲霉),pl=4.2; 胰蛋白酶抑制剂 (大豆),pl=4.5; β -乳球蛋白 (牛, 牛奶),pl=5.2 和pl=5.3; 碳酸酐酶 (牛, 红细胞),pl=6.0; 肌红蛋白 (马, 肌肉),pl=6.9 和 7.4; 凝集素 (小扁豆),pl=7.8、pl=8.0 和pl=8.3; 核糖核酸酶 A (牛, 胰腺),pl=9.5; 细胞色素 c (马, 心脏),pl=10.7。



推荐产品

Invitrogen™ Novex™ IEF 缓冲液试剂盒包含优化的阴极、阳极和上样缓冲液,能够降低可变性、实现一致的结果。

IEF Marker 3-10 为即用型产品,可提供准确的结果。

Zymogram 凝胶

轻松分析凝胶内蛋白酶

Invitrogen™ Novex™ 10% Zymogram Plus (明胶) 凝胶可用于检测和表征以明胶为底物的蛋白酶:在变性条件下运行蛋白酶的电泳后,通过简单的复性、显影和染色方案在深色背景上展示出锐利的条带。Zymogram 凝胶通常用于检测基质金属蛋白酶, Novex 10% Zymogram Plus 凝胶具有高灵敏度,可检测低至5×10°单位的胶原酶。

Novex Zymogram Plus (明胶)凝胶的特点。

| | Zymogram Plus 明胶 |
|------------|-----------------------------|
| 凝胶成分 | 10% Tris-甘氨酸预制胶 |
| 基质 | 0.1% 明胶 |
| 灵敏度 | 5 x 10 ⁻⁶ 单位的胶原酶 |
| 电泳后是否需要染色? | 是 |
| 分离范围 | 20-220 kDa |

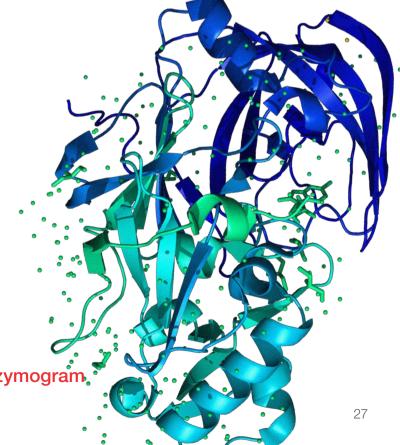
性能和规格

- 保质期: 2 个月
- 平均电泳时间: 90 分钟
- 分离范围: 20-220 kDa(图 22)
- 聚丙烯酰胺浓度: 固定浓度 10% (含明胶)
- 凝胶尺寸: 8 x 8 cm (厚度 1 毫米)
- 每孔最大上样体积: 20 µL

小知识

Novex Zymogram 凝胶的工作原理

蛋白酶样品在非还原且不加热的情况下于 SDS 缓冲液中变性,然后在 Tris-甘氨酸 SDS 电泳缓冲液中的 Novex Zymogram Plus 凝胶上电泳。电泳后,使用含有非离子型去垢剂的 Invitrogen™ Novex™ Zymogram 复性缓冲液孵育凝胶,使蛋白酶复性。然后在 Invitrogen™ Novex™ Zymogram 显影缓冲液中平衡凝胶,添加酶促活性所需的二价金属阳离子,然后进行染色和脱色。最终,蛋白酶活性区域在深蓝色背景下显示为一条清晰的条带,其中蛋白酶已消化底物。



获取更多信息,请浏览 thermofisher.com/zymogram,

Novex Zymogram 凝胶

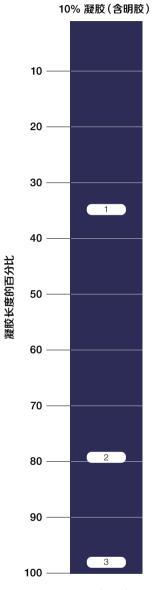
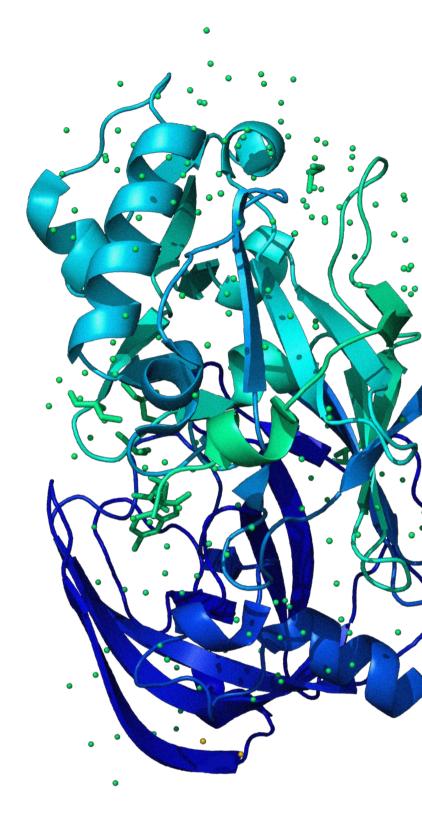


图 22.Novex Zymogram Plus (明胶)迁移图。

条带的编号代表以下蛋白酶: 条带 1: 1 型胶原酶 (140 kDa) 条带 2: 嗜热菌蛋白酶 (37 kDa) 条带 3: 胰蛋白酶 (19 kDa)

推荐产品

电泳后,在NovexZymogram复性缓冲液(10X)中孵育凝胶,使蛋白酶复性。然后在NovexZymogram显影缓冲液(10X)中平衡凝胶,添加酶促活性所需的二价金属阳离子。



E-PAGE 高通量预制胶系统

具有更高样品诵量的蛋白分离和分析系统

Invitrogen™ E-PAGE™ 高通量预制胶系统专用于快速、无需缓冲液的中、高通量蛋白分析。Invitrogen™ E-PAGE™ 48 孔和 96 孔预制胶由含缓冲液的凝胶基质和电极组成,预包装在一次性且可透紫外的胶盒中。每个胶盒都标有唯一的条形码,便于使用条形码扫码机识别凝胶。同时,这些凝胶可以用多通道移液枪或自动上样系统上样。E-PAGE 系统还包括用于运行凝胶的 Invitrogen™ E-Base™ 集成设备、可选的自动上样 E-Holder™ 平台和免费 E-Editor™ 2.0 软件,方便对齐和比较图像。

E-PAGE 高通量预制胶系统的优势:

- 使用简单 约 23 分钟即可快速完成设置和蛋白分离
- 快速上样 与多诵道移液枪和自动上样系统兼容
- 高效免疫印迹和染色方案 提供优化的方案和试剂



性能和规格

- 保质期: 6 个月
- 平均电泳时间: 23 分钟
- 分离范围: 10-200 kDa(图 24)
- 聚丙烯酰胺浓度:
 - E-PAGE 48 孔凝胶: 固定浓度 8%
 - E-PAGE 96 孔凝胶: 固定浓度 6%
- 凝胶尺寸: 13.5 x 10.8 cm (厚度为 3.7 毫米)
- 每孔最大上样体积:

Α

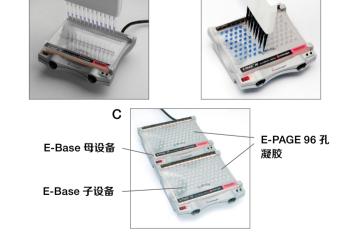
- E-PAGE 48 孔凝胶: 20 uL
- E-PAGE 96 孔凝胶: 15 μL



小知识

E-PAGE 凝胶的工作原理

E-PAGE™ 凝胶在 Invitrogen™ E-Base™ 电泳设备中运行,设备内置了电源、直接连接至电源插座。Invitrogen™ E-Base™ 母设备可以运行单块 E-PAGE 凝胶,也可以将一个 E-Base 母设备与两个或多个 Invitrogen™ E-Base™ 子设备结合使用,以同时运行多块凝胶(图 23)。



В

图 23. E-PAGE 凝胶的上样和电泳。(A) 使用多通道移液枪上样至 E-PAGE 48 孔凝胶。(B) 使用多通道移液枪上样至 E-PAGE 96 孔凝胶。(C) 连接 E-Base 母设备和子设备来使用。

E-PAGE 凝胶

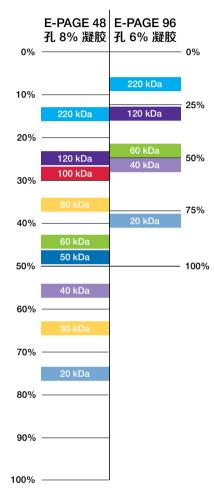
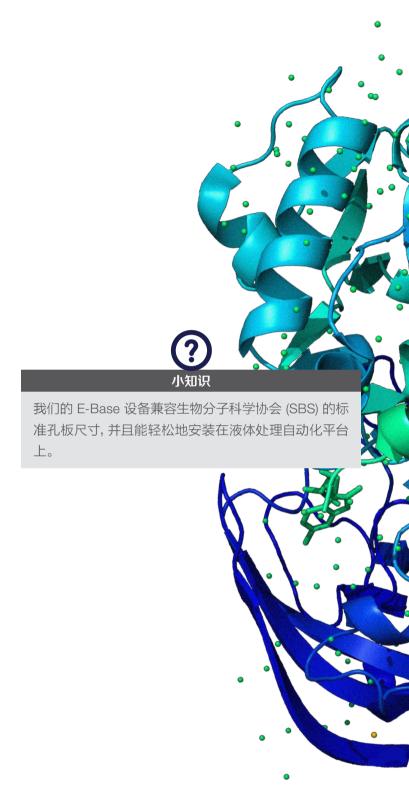


图 24. E-PAGE 凝胶迁移图。展示了 Invitrogen™ E-PAGE™ MagicMark™ 非预染蛋白标准品的迁移模式。



SureCast 手灌胶系统

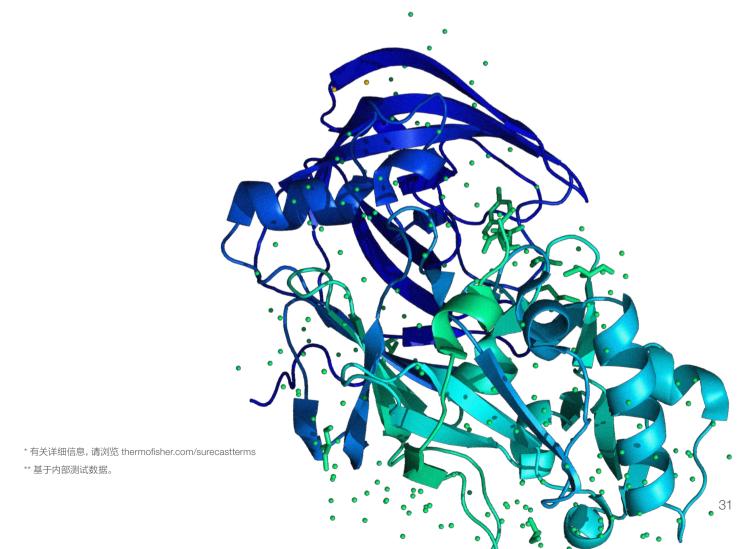
100% 不漏液* — 避免因漏液而重新灌胶

Invitrogen™ SureCast™ 手灌胶系统专用于不漏液、可靠的凝胶灌注。SureCast 系统与 Mini Gel Tank 小型电泳槽兼容。

SureCast 手灌胶系统的优势:

- 不漏液设计 一 减少因漏液而重新灌胶所浪费的时间
- **出色的玻璃板耐用性** 比其它供应商玻璃板的耐用性高 20 倍**
- **独特的倾斜支脚设计** 有助于在灌制丙烯酰胺溶液时, 尽可能减少溶液溢出
- **灌胶组件组装简单** 只需将玻璃板放入制胶架中, 拉动把手固定玻璃板即可
- **配套提供多用途工具** 多合一工具可辅助凝胶上样、电 泳后撬开凝胶盒和修整凝胶





SureCast 手灌胶系统

SureCast 浓缩胶缓冲液和分离胶缓冲液

Invitrogen[™] SureCast[™] 浓缩胶缓冲液和分离胶缓冲液采用袋装的预混干粉形式,每袋干粉可以制备 500 mL 浓缩胶缓冲液 (0.5 M Tris-HCl 缓冲液, pH 6.8)或 500 mL 分离胶缓冲液 (1.5 M Tris 缓冲液, pH 8.8),以手工配置丙烯酰胺凝胶。

SureCast 缓冲液的特点:

- 方便的预混干粉包装 将一小包干粉溶解在水中,即可完成缓冲液的制备
- **节省时间和空间** 无需称量、无需计算、无需调节 pH 值, 也无需分开储存各种单独的试剂
- **保质期长** 易于储存, 干粉包装能避免长期储存溶液时 对稳定性的顾虑

SureCast 丙烯酰胺溶液,40%

Invitrogen™ SureCast™ 丙烯酰胺溶液 (40%) 可用于在 SureCast 手灌胶系统或其它手灌胶系统中制备固定浓度凝 胶或梯度胶。

优势:

- 高纯度, 确保凝胶质量
- 室温储存,节省冰箱空间
- 粉末状丙烯酰胺的安全替代品
- 浓缩形式, 可以制作各种浓度的凝胶



点击 thermofisher.com/surecast 查看 SureCast 手灌胶系统的操作演示



电泳前的蛋白提取和样品制备

高质量的样品制备对于电泳中蛋白条带的成功分离至关重要。由于蛋白样品的多样性,没有哪种样品制备方法或缓冲液能够适用于所有类型的样品。不过,在制备蛋白电泳样品时可遵循下面的通用指导原则。

- 为了最大程度地避免样品发生变化,需要简化样品制备流程,并使用针对特定样品类型和目标蛋白进行了优化的试剂耗材。
- 细胞裂解会破坏细胞膜和细胞器,导致酶活性不受控制,从而降低蛋白产量并导致蛋白降解。为避免这些负面影响,应该在裂解液中加入蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂。
- 一些缓冲液成分可能会干扰所选的凝胶电泳系统(例如 Tris-甘氨酸、Bis-Tris),并且在凝胶电泳时会导致各种人为 误差。最简单的方法是,选择与样本制备所用缓冲液相兼

容的凝胶电泳系统。但是,如果不能更改凝胶电泳系统,那么可能需要对样品进行除杂,使样品与所用系统兼容(请参阅"蛋白除杂方法"章节)。某些除杂方法更适合减少或去除特定于扰物质。

为避免上样量过少或过多,在电泳之前需使用兼容的蛋白定量方法确定每份样品的蛋白浓度(请参阅"蛋白定量"章节)。请注意,某些缓冲液成分可能会干扰所用蛋白定量方法的化学反应。在检测样品浓度之前,可能需要减少或去除样品中的这些干扰物。因为这些干扰物可能会导致偏高或偏低的浓度读值,具体取决于这些物质和所用的蛋白定量方法。

电泳前的蛋白样品制备

第1步

细胞破碎和蛋白提取

不同的样品(例如,植物细胞与哺乳动物细胞)需要不同的细胞破碎和蛋白提取策略,因此应使用已针对特定样品类型进行了优化的试剂。此外,蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的加入可最大程度地降低蛋白酶活性,因为这些蛋白酶会修饰蛋白和降低蛋白得率。为了长期保存样品,建议冷冻样品以进一步抑制蛋白降解。

第2步

去除污染物、脱盐、浓缩

去除或减少可能对电泳产生负面影响的干扰物质。

第3步

蛋白定量

使用兼容性高的蛋白定量法测定蛋白样品。如有必要,电泳前可浓缩或稀释样品。

蛋白提取和除杂方法

采用温和的配方,最大程度地提高蛋白得率和活性

使用分别针对哺乳动物、细菌、酵母和昆虫(杆状病毒)样品进行了优化的提取试剂,在组织、细胞或亚细胞组分的分离提取中实现高蛋白得率。这些温和的配方已在多种组织类型和细胞系中经过广泛验证,基本无需再使用机械方法进行细胞的破碎。

针对各种样品类型的推荐蛋白提取试剂和试剂盒

| 样品类型 | 提取目标 | 推荐的 Thermo Scientific 试剂或试剂盒 |
|--|-------|---|
| | | M-PER™ 哺乳动物蛋白提取试剂 |
| | | T-PER™ 组织蛋白提取试剂 |
| 原代细胞或哺乳动物细胞或组织 | 总蛋白提取 | N-PER™ 神经元蛋白提取试剂 |
| | | RIPA 裂解液 |
| | | Pierce [™] IP 裂解液 |
| | | NE-PER™ 细胞核与细胞质提取试剂 |
| | | 亚细胞组分分离试剂盒 |
| | 亚细胞组分 | Mem-PER Plus 膜蛋白提取试剂盒 |
| 哺乳动物细胞培养物或组织 | | Pierce™ 细胞表面生物素化和分离试剂盒 |
| 8冊 ずし4月 1/// 三田 // ピュロ クト 1/// 二人 三口 ニ/ (| | Pierce™ GPCR 提取和稳定试剂 |
| | | 线粒体分离试剂盒 |
| | 细胞器分离 | Syn-PER™ 突触蛋白提取试剂 |
| | | 组织和细胞培养物的溶酶体富集试剂盒 |
| 细菌 | 总蛋白提取 | B-PER™ Complete 细菌蛋白提取试剂 |
| 酵母细胞 | 总蛋白提取 | Y-PER™ 酵母蛋白提取试剂 Y-PER™ Plus 可透析酵母菌蛋白提取试剂 |
| 昆虫细胞(杆状病毒) | 总蛋白提取 | I-PER™ 昆虫细胞蛋白提取试剂 |



小知识

尽管 RIPA 缓冲液是制备 SDS-PAGE 和免疫印迹分析样品的常用裂解缓冲液,但它是一种强裂解的裂解液,它的成分可能会干扰某些蛋白定量方法和凝胶电泳系统。由于传统 RIPA 缓冲液配方存在多种版本,因此在进行凝胶电泳和蛋白检测前,推荐交叉比对您的 RIPA 缓冲液配方与干扰物列表。

获取更多信息, 请浏览 thermofisher.com/proteinextraction

蛋白电泳的干扰物质

| 干扰物质 | 可能的原因 | 解决方案 |
|------------|---|---|
| 盐离子过多 | 高盐浓度导致电导率增加, 从而使样品泳道不均匀 和泳道变宽 | 通过对样品除杂来降低盐浓度(请参阅"蛋白除杂方法"章节) |
| | | • 确保盐浓度不超过 50-100 mM |
| DNA污染 | 过量的 DNA 会导致样品粘稠, 形成蛋白团块, 使泳道变窄, 电泳结果无法解读 | ● 上样前使基因组 DNA 断裂以降低粘性 |
| 高浓度去垢剂 | 去垢剂可与 SDS 形成混合胶束, 并在凝胶中迁移。 | • 稀释样品,降低最终上样样品中的去垢剂浓度。 |
| | 这可能会导致泳道变宽、样品泳道不均匀、在泳道下方区域出现条纹,导致无法分析 40 kDa 以下的蛋白。 | 使用去垢剂清除层析柱或 SDS-PAGE 样品制备试 剂盒去除多余的去垢剂 |
| 样本类型和蛋白上样量 | 蛋白上样量过多会导致许多问题,如蛋白条带分辨率降低,泳道有纵向条纹且不平直 | 为了在 10 孔、12 孔、15 孔或 17 孔的小型胶中获得最佳分辨率,推荐的最大上样量为每个条带 0.5 μg,或者每个泳道上样约 10-15 μg 的细胞裂解物 |
| 过多/不当的还原剂 | 还原剂过多会导致泳道边缘出现阴影 | SDS-PAGE 中, 还原剂 DTT (二硫苏糖醇) 和 TCEP (三(2-羧基乙基) 膦) 的终浓度应小于 50 mM, β-ME (β-巯基乙醇) 还原剂的终浓度应小于 2.5% |
| 过多的盐酸胍 | 盐酸胍具有高离子强度, 会使导电率变高, 从而使泳 道宽度不一致或者泳道变宽。 | ● 进行样品除杂 |

蛋白除杂方法

蛋白提取试剂配方中使用的许多去垢剂和盐离子可能会对通过蛋白电泳进行的后续分析产生不利影响。因此,在细胞裂解或随后的样品处理(例如蛋白纯化)之后,可能需要去除或减少这些杂质。下面列出了可用于去除这些干扰物质的多种技术。

透析

透析是一种经典的分离技术,通过半透膜进行选择性地扩散,有利于从蛋白溶液中去除不需要的小分子化合物。大于膜孔的蛋白质被保留在膜的样品侧,低分子量干扰物通过自由扩散穿过膜,并可通过多次缓冲液置换去除。传统透析方法使用扁平的透析袋,透析袋使用前需要预处理,使用时需要撵开、夹紧,光滑不好操作且容易渗漏。Thermo Scientific[™] Slide-A-Lyzer[™] 透析卡是即用型装置,可以避免潜在的样品泄漏风险,最大程度地提高易用性。

脱盐

分子排阻色谱法(也称为凝胶过滤)可以有效地用于蛋白质脱盐。选择合适孔径的树脂,使得小分子干扰物(例如,盐)能穿入孔,而目的蛋白不能进入。由于小分子干扰物需要穿过树脂弯弯曲曲的孔,它们的穿过速度较慢,穿过时间较长。而较大的蛋白质由于无法穿过孔,会首先从柱中分离出来,从而将目的蛋白与小分子干扰物分离开。Thermo Scientific™ Zeba™ 脱盐产品使用独特的树脂,经过专门设计,可在各种蛋白浓度和样品量范围内提供稳定的脱盐性能。即使是丰度很低的蛋白,也可以实现很高的蛋白回收率。

浓缩

类似于透析,蛋白浓缩和渗滤使用半透膜,将大分子与小分子化合物分离。与依赖被动扩散的透析不同,通过离心将溶液(缓冲液)和小分子溶质同时通过膜,然后另一侧收集滤液,实现浓缩。大分子则保留在膜的样品侧,随后浓缩成较小的体积(保留物)。对于缓冲液置换,可将截留液用置换缓冲液稀释至原始体积,并多次离心直至达到所需的置换水平。我们的高性能 Thermo Scientific™ Pierce™ 蛋白浓缩管可实现快速的样品处理和蛋白高回收率。

沉淀

蛋白沉淀是使用三氯乙酸 (TCA) 或丙酮选择性沉淀蛋白来去除干扰物质。除去含有干扰物质的溶液后,将蛋白重新溶解到兼容蛋白定量方法的缓冲液中。市售试剂盒简化了蛋白定量的样品前处理流程,可使用丙酮沉淀从大分子蛋白样品中分离出小分子。与96 孔离心过滤板一起使用时,该方法非常适合一次性处理多个样品。

蛋白样品除杂方法的比较

| 技术 | 透析 | 脱盐 | 浓缩 | 沉淀 |
|----------|--|--|---|--|
| 最适合的应用 | 缓冲液置换, 脱盐 | 脱盐, 缓冲液置换 | 样品浓缩, 脱盐, 缓冲液 置换 | 缓冲液的完全替换 |
| 优点 | 样品处理体积的灵活度 更高,可处理的分子量 范围更宽 | 速度快 | 最适合用于中小体积 样品;与传统透析方法相比 的处理速度更快 | 成本低, 适用于小体积样品 |
| 缺点 | 可能需要多次透析, 过 程缓慢 | 单次可处理的样品 体积有限 | 可能出现蛋白丢失 | 蛋白丢失率更高 |
| 样品处理时间 | 约 2-24 小时 | 约 5-10 分钟 | 约 5-30 分钟 | 约 5 分钟 |
| 上样体积处理范围 | 10 μL-250 mL | 2 μL-4 mL | 100 μL-100 mL | 不限 |
| 推荐样品类型 | 纯化蛋白 | 裂解物或纯化蛋白 | 裂解物或纯化蛋白 | 裂解物或纯化蛋白 |
| 推荐产品 | Thermo Scientific [™] Slide-A-Lyzer [™] 透析卡 | Thermo Scientific Zeba [™] 脱盐离心柱 | Thermo Scientific [™] Pierce [™] 蛋白浓缩管 | Thermo Scientific [™] Pierce [™] SDS-PAGE 样 品制备试剂盒 |

蛋白定量

确定样品的蛋白浓度

在分析比较两份样品前,为防止上样量过少或过多,需要进行蛋白定量。具体的蛋白定量方法取决于蛋白与样品中常见

物质(去垢剂、还原剂、抑制剂、盐、离散剂)的兼容性和所需的灵敏度。请参考下表,根据您所用的裂解缓冲液选择合适的定量方法。

基干常见裂解缓冲液的定量方法推荐

| 裂解(提取)缓冲液 | 推荐的蛋白定量方法 | 如果添加还原剂或金属螯合剂 (如 1 mM 以上的 DTT, 10 mM 以上的 EDTA) |
|---|--------------------------|---|
| RIPA 裂解液 (25 mM Tris-HCl, pH 7.6, 150 mM NaCl, 1% NP-40, 1% 脱氧胆酸钠, 0.1% SDS) | BCA 蛋白定量 | Pierce BCA 蛋白检测试剂盒-兼容还原剂 |
| Invitrogen™ 裂解缓冲液 (10 mM Tris, pH 7.4, 100 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 1 mM NaF, 20 mM Na4P 207, 2 mM Na3VO4, 1% Triton™ X-100, 10% 丙三醇, 0.1% SDS, 0.5% 脱氧胆酸盐) | Pierce BCA 蛋白定量试剂盒-兼容还原剂 | Pierce BCA 蛋白定量试剂盒-兼容还原剂 |
| M-PER 哺乳动物蛋白提取试剂 | BCA 蛋白定量 | Pierce 考马斯 Plus (Bradford) 定量试剂盒 |
| B-PER 细菌蛋白提取试剂 | BCA 蛋白定量 | Pierce BCA 蛋白定量试剂盒-兼容还原剂 |
| NE-PER 细胞核与细胞质提取试剂 | BCA 蛋白定量 | Pierce 考马斯 Plus (Bradford) 定量试剂盒 |



小知识

BCA 蛋白定量方法与考马斯染料定量方法 (Bradford 法) 相比具有独特的优势, 因为 BCA 蛋白定量方法可以 兼容含高达 5% 表面活性剂 (去垢剂) 的样品, 并且受蛋白组成差异的影响要小得多, 因此具有更好的蛋白间一致性和准确性。



小贴十

少量或浓度极低的样品定量可以使用荧光法,因为荧光 定量法的线性工作范围可低至 10 ng/mL,而增强比色 法为 500 ng/mL、标准比色法则为 2,000 ng/mL。

蛋白定量方法选择指南

| | Thermo Scientific [™] Pierce [™] Rapid Gold BCA 定量试剂盒 | Thermo Scientific [™] Pierce [™] BCA 定量试剂盒 | Thermo Scientific [™] Pierce [™] BCA 定量试剂盒 - 兼容还原剂 | Thermo Scientific ^{::} Pierce ^{::} 考马斯 Plus (Bradford) 定量试剂盒 |
|--------|---|---|---|--|
| 概述 | 5 分钟室温 BCA 定量 | 经典 BCA 定量, 线性度高 | 兼容还原剂的 BCA 定量 | 改良 Bradford 定量,线性度较高 |
| 最小上样体积 | 10 μL | 25 μL | 25 μL | 10 μL |
| 线性范围 | 125-2,000 μg/mL | 20-2,000 μg/mL | 125-2,000 μg/mL | 100-1,500 μg/mL |
| 兼容性 | 去垢剂 | 去垢剂 | 去垢剂和还原剂 | 还原剂 |
| 孵育温度 | 室温 | 37 ℃ | 37 ℃ | 室温 |
| 检测时长 | 5 分钟 | 30 分钟 | 50 分钟 | 10 分钟 |
| 检测波长 | 480 nm | 562 nm | 562 nm | 595 nm |

点击下载涵盖所有蛋白定量方法的技术参考指南

获取更多信息,请浏览 thermofisher.com/proteinassays

用于凝胶上样的 PAGE 样品制备

恰当制备样品是凝胶上样前的必要步骤。根据凝胶类型,制备工作可能涉及蛋白变性、还原二硫键和添加上样缓冲液。上样缓冲液中含有甘油,因此比水重,在上样到凝胶时会整齐地沉到已浸满缓冲液的上样孔的底部。通常,上样缓冲液含有带负电荷的低分子量染料,该染料会迁移到缓冲液的前沿,帮助实验人员追踪电泳进程。上样缓冲液中最常见的示踪染料是溴酚蓝。下面是制备样品的通用指南。

蛋白电泳样品制备的通用指南:

使用适当的上样缓冲液(也称样品缓冲液)制备样品,使上样缓冲液的终浓度为 1X。推荐的上样缓冲液如**第 42 页**所示。

电泳还原和非还原样品:为获得最佳结果,不建议在同一块凝胶上电泳还原样品和非还原样品。如果确实需要在同一块凝胶上电泳还原样品和非还原样品,请勿在相邻泳道中电泳这两种样品。如果两种样品的泳道非常接近,则还原剂可能会对未还原的样品产生残留效应。

加热样品:将样品在含有 SDS 的缓冲液中 100 ℃ 加热会导致蛋白水解。我们建议,对变性电泳(还原或非还原)在 70 ℃ 下加热样品 2-10 分钟,以便获得最佳结果。对非变性电泳或Invitrogen™ Novex™ Zymogram Plus 凝胶,请勿加热样品。

电泳缓冲液

我们提供可靠的预混 SDS-PAGE 缓冲液和试剂,包括上样缓冲液、电泳缓冲液、还原剂和抗氧化剂。

缓冲液和试剂选择指南

| 凝胶类型 | 根据凝胶优化的上样缓冲液 | 根据凝胶优化的电泳缓冲液 |
|--------------------------|-------------------------------------|---|
| Bolt Bis-Tris Plus 预制胶 | ● Bolt 样品还原剂 (10X) | • 20X Bolt MES SDS 电泳缓冲液 (3.5-160 kDa 分离范围) |
| | • 4X Bolt LDS 上样缓冲液(非还原) | • 20X Bolt MOPS SDS 电泳缓冲液 (15-260 kDa 分离范围) |
| | • Bolt 抗氧化剂 | |
| NuPAGE Bis-Tris 预制胶 | ● NuPAGE 样品还原剂 (10X) | • NuPAGE MES SDS 电泳缓冲液 (20X) (3.5-160 kDa 分离范围) |
| | • 4X NuPAGE LDS 上样缓冲液(非还原) | • NuPAGE MOPS SDS 电泳缓冲液 (20X) (15-260 kDa 分离范围) |
| | • NuPAGE 抗氧化剂 | |
| NuPAGE Tris-乙酸预制胶 | • 4X NuPAGE LDS 上样缓冲液(非还原) | • NuPAGE Tris-乙酸 SDS 电泳缓冲液 (20X) |
| | • NuPAGE 样品还原剂 (10X) | • Novex Tris-甘氨酸非变性电泳缓冲液 (10X)* |
| | • Novex Tris-甘氨酸非变性上样缓冲液 (2X)* | |
| Novex Tris-甘氨酸预制胶 | • Novex Tris-甘氨酸 SDS 上样缓冲液 (2X) | • Novex Tris-甘氨酸 SDS 电泳缓冲液 (10X) |
| | ● NuPAGE 样品还原剂 (10X) | • Novex Tris-甘氨酸非变性电泳缓冲液 (10X)* |
| | • Novex Tris-甘氨酸非变性上样缓冲液 (2X)* | • Pierce Tris-甘氨酸 SDS 缓冲液 (10X) |
| | | BupH Tris-甘氨酸缓冲液套装 |
| Novex Tricine 预制胶 | • Novex Tricine SDS 上样缓冲液 (2X) | • Novex Tricine SDS 电泳缓冲液 (10X) |
| NativePAGE 非变性预制胶 | NativePAGE Sample Buffer (4X) | NativePAGE Running Buffer (20X) |
| | NativePAGE 5% G-250 Sample Additive | NativePAGE Cathode Buffer Additive (20X) |
| Novex IEF 预制胶 | • Novex IEF 上样缓冲液, pH 3-10 (2X) | • Novex IEF 阳极缓冲液 (50X) |
| | ● IEF 上样缓冲液, pH 3-7 (2X) | • Novex IEF 阴极缓冲液, pH 3-10 (10X) |
| | | • Novex IEF 阴极缓冲液, pH 3-7 (10X) |
| Novex Zymogram Plus 凝胶** | • Novex Tris-甘氨酸 SDS 上样缓冲液 (2X) | • Novex Tris-甘氨酸 SDS 电泳缓冲液 (10X) |

^{*} 在这种凝胶中进行非变性蛋白分离时, 请使用该缓冲液。

MES 和 MOPS 电泳缓冲液对比

- 使用 MES SDS 电泳缓冲液解析低分子量蛋白。
- 使用 MOPS 电泳缓冲液解析中至 高分子量大小的蛋白。
- MES 的 pKa 低于 MOPS, 因此 在 MES 电泳缓冲液中的凝胶比在 MOPS SDS 电泳缓冲液中的凝胶电 泳速度更快。离子迁移的差异会影响堆积效果, 从而导致这些缓冲液 之间的蛋白分离范围有所不同

还原剂

在制备用于还原凝胶电泳的样品时,可以使用以下还原剂:

- Bolt 样品还原剂
- NuPAGE 样品还原剂
- 二硫苏糖醇 (DTT), 终浓度为 50 mM
- β-巯基乙醇 (β-ME), 终浓度为 2.5%
- 三(2-羧基乙基)膦 (TCEP), 终浓度为 50 mM

在上样前一小时内,将还原剂添加到样品中。即使还原样品储存在冷冻状态下,也不要长时间储存。因为样品在储存过程中可能会再次发生氧化,从而导致不一致的结果。

获取更多信息,请浏览 thermofisher.com/electrophoresisbuffers

^{**} Novex Zymogram 显色缓冲液 (10X) 和 Novex Zymogram 复性缓冲液 (10X) 可用于 Zymogram Plus 凝胶显色。

缓冲液配方

Bolt Bis-Tris 体系的缓冲液配方

| 缓冲液 | 储存温度 | 组分 | 浓度 (1X) |
|---------------------|--------|---|---|
| Bolt LDS 上样缓冲液 | 4–25°C | 甘油 Tris base Tris-HCI LDS EDTA SERVA™ Blue G-250 酚红 | 10% 141 mM 106 mM 2% 0.51 mM 0.22 mM 0.175 mM (pH 8.5) |
| Bolt MOPS SDS 电泳缓冲液 | 4-25°C | MOPS Tris base SDS EDTA | 50 mM 50 mM 0.1% 1 mM (pH 7.7) |
| Bolt MES SDS 电泳缓冲液 | 4–25°C | MES Tris base SDS EDTA | 50 mM 50 mM 0.1% 1 mM (pH 7.3) |
| Bolt 转印缓冲液 | 4–25°C | Bicine Bis-Tris (游离碱) EDTA 氯丁醇 | 25 mM 25 mM 1.0 mM 0.05 mM (pH 7.2) |



NuPAGE Bis-Tris 和 Tris-Z酸体系的缓冲液配方

| 缓冲液 | 储存温度 | 组分 | 浓度 (1X) |
|--------------------------|--------|--|---|
| NuPAGE LDS 上样缓冲液 | 4–25°C | 甘油 Tris base Tris-HCI LDS EDTA SERVA Blue G-250 酚红 | 10% 141 mM 106 mM 2% 0.51 mM 0.22 mM 0.175 mM (pH 8.5) |
| NuPAGE MOPS SDS 电泳缓冲液* | 4–25°C | MOPS Tris base SDS EDTA | 50 mM 50 mM 0.1% 1 mM (pH 7.7) |
| NuPAGE MES SDS 电泳缓冲液* | 4-25°C | MES Tris base SDS EDTA | 50 mM 50 mM 0.1% 1 mM (pH 7.3) |
| NuPAGE Tris-乙酸 SDS 电泳缓冲液 | 4-25°C | Tris base Tricine SDS | 50 mM 50 mM 0.1% (pH 8.24) |
| NuPAGE 转印缓冲液 | 4-25°C | Bicine Bis-Tris (游离碱基) EDTA 氯丁醇 | 25 mM 25 mM 1.0 mM 0.05 mM (pH 7.2) |

^{*} 预混缓冲液 (产品货号 NP0001、NP0002) 也含有痕量的专利配方 NuPAGE 抗氧化剂 (产品货号 NP0005)以保证稳定性。特定方案可能需要额外添加抗氧化剂。

Novex Tris-甘氨酸体系的缓冲液配方

| 缓冲液 | 储存温度 | 组分 | 浓度 (1X) |
|--------------------------|------|---------------------------------------|--|
| Novex Tris-甘氨酸 SDS 上样缓冲液 | 4°C | Tris-HCI* 甘油 SDS 溴酚蓝 去离子水 | 63 mM 10% 2% 0.0025% — (pH 6.8) |
| Novex Tris-甘氨酸非变性上样缓冲液 | 4°C | Tris-HCI* 甘油 溴酚蓝 去离子水 | 100 mM 10% 0.0025% — (pH 8.6) |
| Novex Tris-甘氨酸 SDS 电泳缓冲液 | 室温 | Tris base 氨酸 SDS 去离子水 | 25 mM 192 mM 0.1% — (pH 8.3) |
| Novex Tris-甘氨酸非变性电泳缓冲液 | 室温 | Tris base 甘氨酸 去离子水 | 25 mM 192 mM — (pH 8.3) |
| Novex Tris-甘氨酸转印缓冲液 | 室温 | Tris base 甘氨酸 去离子水 | 12 mM 96 mM — (pH 8.3) |

^{*} 使用 Tris base 制备 Tris-HCI 溶液, 并用 6 N HCI 调节 pH 值。

Novex Tricine 体系的缓冲液配方

| 缓冲液 | 储存温度 | 组分 | 浓度 (1X) |
|-------------------------|------|---|---|
| Novex Tricine SDS 上样缓冲液 | +4°C | Tris-HCI* 丙三醇 SDS 考马斯蓝 G 酚红 去离子水 | 450 mM 12% 4% 0.0075% 0.0025% – (pH 8.45) |
| Novex Tricine SDS 电泳缓冲液 | 室温 | Tris base Tricine SDS 去离子水 | 100 mM 100 mM 0.1% - (pH 8.3) |

^{*} 使用 Tris base 制备 Tris-HCI 溶液, 并用 6 N HCI 调节 pH 值。

Zymogram 电泳的缓冲液配方

| 缓冲液 | 储存温度 | 组分 | 浓度 (1X) |
|---------------------------|------|--|--|
| Novex Zymogram Plus 复性缓冲液 | 室温 | Triton X-100 溶液 去离子水 | 2.7% 水溶液 (w/v) |
| Novex Zymogram Plus 显影缓冲液 | 室温 | Tris-HCI* NaCI CaCl ₂ ·2H ₂ O Brij 35 去离子水 | 50 mM 200 mM 5 mM 0.006% (w/v) - (pH 7.6) |

^{*} 使用 Tris base 制备 Tris-HCl 溶液, 并用 6 N HCl 调节 pH 值。

等电聚焦电泳的缓冲液配方

| 缓冲液 | 储存温度 | 组分 | 浓度 (1X) |
|--|-------|---|--|
| Novex IEF 上样缓冲液 pH 3-7 | 4°C | 赖氨酸(游离碱) 甘油 去离子水 | 40 mM 15% — |
| Novex IEF 上样缓冲液 pH 3-10 | 4°C | 精氨酸(游离碱)赖氨酸(游离碱)甘油去离子水 | 20 mM 20 mM 15% |
| Novex IEF 阴极缓冲液 pH 3-7 (上缓冲槽室) | 4°C | 赖氨酸(游离碱) 去离子水 | 40 mM — |
| Novex IEF 阴极缓冲液 pH 3-10 (上缓冲槽室) | 4°C | 精氨酸(游离碱) 赖氨酸(游离碱) 去离子水 | 20 mM 20 mM — (pH 10.1) |
| Novex IEF 阳极缓冲液 (适用于pH 3-7; pH 3-10) (下缓冲槽室) | 室温 | 磷酸 85% 去离子水 | 7 mM — (pH 2.4) |
| 尿素-硫脲-CHAPS (用于 IPG 条带的再水化缓冲液) | -20°C | 去离子尿素 去离子硫脲 CHAPS 两性电解质 溴酚蓝 超纯水 DTT | 7 M 2 M 2-4% 0.2-2.0% 0.002% — 20 mM |

蛋白分子量的估算

蛋白分子量标准的选择

蛋白分子量标准 (Protein Ladder), 也称为蛋白 Marker 或蛋白标准品, 用于估算电泳过程分离的蛋白分子量的大小。因为它们包含高度纯化的蛋白混合物, 而且这些蛋白的分子量和特性是已知的, 所以可作为参照物。

将蛋白分子量标准与样本上样到凝胶,在电泳过程中分子的迁移速度与分子量大小成反比。电泳完成后,这些蛋白将在凝胶上各自形成单独的条带。将每种蛋白标志物在凝胶上的迁移距离与其分子量对数分别表示在坐标轴上,即可得到标准曲线。通过测量未知蛋白在同一凝胶上的迁移距离,可以在标准曲线中确定未知蛋白的分子量。新型凝胶成像系统可能会配置软件算法,以尽可能地简化这个数学计算过程。此外,蛋白分子量标准也经常作为参照物,帮助鉴别分子量大小已知的目标蛋白。

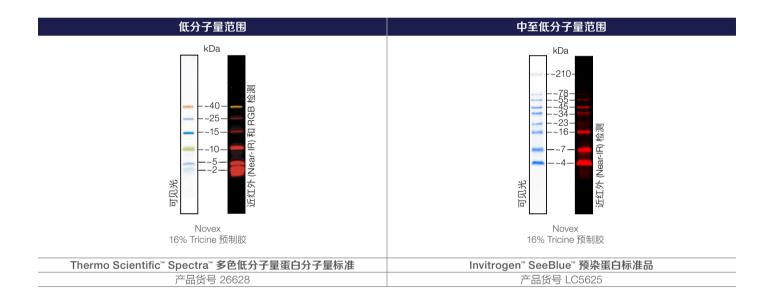
蛋白分子量标准有各种分子量范围可选,可以是预染、非预染或带有标记,以用于不同的检测体系和下游应用。请继续阅读,了解哪种蛋白分子量标准适用于您的应用。

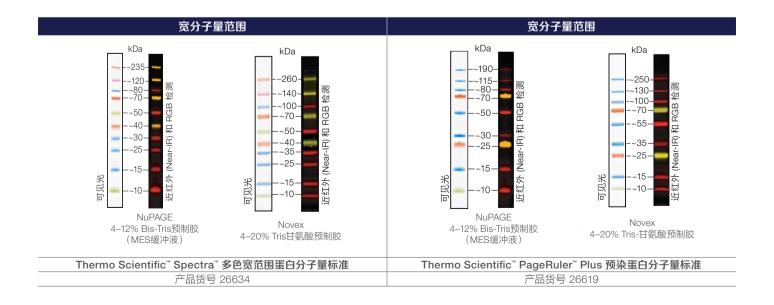
预染蛋白分子量标准

预染蛋白分子量标准由预先用各种染料标记的蛋白组成,无需额外染色步骤即可目测。预染蛋白分子量标准在电泳过程中能观察到,从而能够监测与特定实验最为相关的、某一分子量范围的蛋白分离过程。大多数预染蛋白分子量标准在经过凝胶染色或转印到膜上的免疫印迹检测后,仍然可以目测。

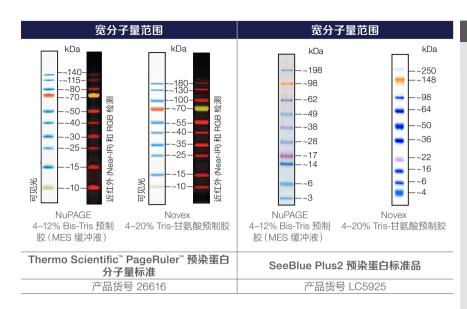
预染蛋白分子量标准可用于:

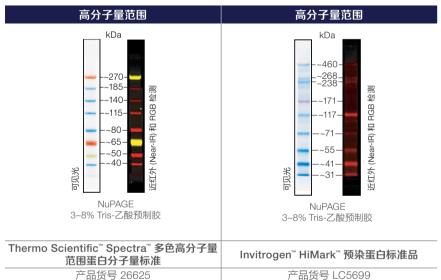
- 监测聚丙烯酰胺凝胶电泳过程中的蛋白分离情况
- 快速判断蛋白是否已从凝胶转印到膜上(预染蛋白分子量标准会一起转移到膜上,但不应以此来确定转印效率;具体参见48页"小知识"的注释)
- 估算目标蛋白分子量的近似值













小知识

为什么同一蛋白Marker在不同凝胶体系中的分子量会不一样?

相同的蛋白在不同的 SDS-PAGE 缓冲液中电泳时 (例如, Bis-Tris 与 Tris-甘氨酸),蛋白的迁移率会出现轻微的差异。每种 SDS-PAGE 缓冲液都 有不同的 pH 值,会影响蛋白的电荷以及它与 SDS 的结合能力。对于天 然蛋白,其蛋白迁移率通常很少有差异,但对于非典型或化学修饰的蛋白 (如预染蛋白标准品),这种差异较为明显。预染蛋白分子量标准的表观 分子量数值在不同的凝胶系统中会有所不同,因此,需要根据所用的凝 胶体系来匹配表观分子量,这对于准确估算样品蛋白是非常重要的。

小知识

如何评估蛋白的转印效率和一致性?

转印效率是指蛋白从凝胶系统转印到免疫印迹膜上的效率。更确切地说,与膜结合的蛋白量将是免疫印迹的基础。如果仅有极少的蛋白从凝胶中转印出来并与膜结合,那么接下来的免疫印迹将变得困难重重。

转印效率有时是通过目测来评估,即观察转印后膜上的预染蛋白分子量标准,但这并不是最佳做法。预染蛋白分子量标准经过染料标记,使得我们能在电泳期间观察分子迁移进程,这些染料会影响蛋白分子量标准离开凝胶的转印过程。但是,样品蛋白没有经过染色,所以会以不同的迁移率离开凝胶。

目测蛋白分子量标准的转印可以有效且快速地确定是否发生了转印(有时电极可能被颠倒,或是转印三明治没有正确组装)。如果没有观察到任何预染蛋白分子量标准转印到膜上,则表明转印过程可能出现了问题。确定转印率更加有效的方法是使用可逆膜染料,对成功转印到膜上的总蛋白进行染色。有时可采取进一步措施,在转印后对凝胶再进行染色,这样可以评估有多少蛋白从凝胶中转印出来。蛋白分子量标准或样品蛋白残留在凝胶中并不鲜见,因为没有完全100%有效的转印方法。真正重要的是,到底有多少蛋白结合到了膜上。

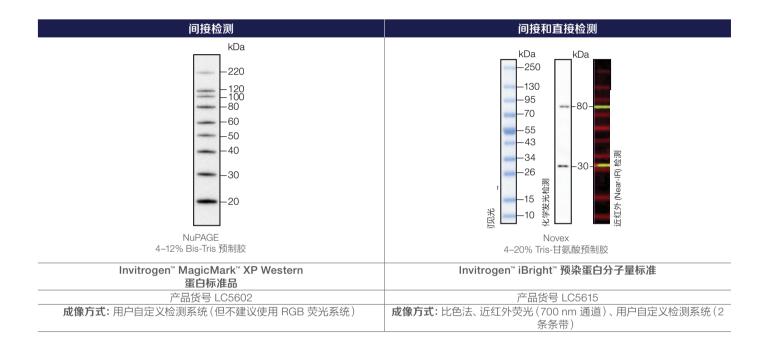
转印一致性是指蛋白离开凝胶转印到膜上的均匀性。理想情况下,蛋白能从两侧和上下均匀地转印到膜上。但是,转印三明治组装不大,或错误地处理转印三明治可能导致膜上产生气泡、折痕和死点。这些操作失误会使后续的免疫印迹步骤变得困难重重,因为蛋白的不均匀转印将引起不均匀的印迹孵育和信号生成。转印一致性不能仅仅通过膜上已转印的预染蛋白分子量标准的状况进行评估,实际上使用可逆膜染料可以更精准地反映整张膜的蛋白转印效率。

免疫印迹蛋白分子量标准

免疫印迹专用蛋白分子量标准是为了直接在印迹膜上简单方便地估计蛋白分子量,或使用各种印迹检测系统(如化学发光、荧光或显色检测系统)来间接估计蛋白分子量。这种蛋白分子量标准由带有 IgG 结合位点的重组蛋白组成。IgG 结合位点与用于检测目标蛋白的一抗或二抗结合,使得蛋白分子量标准可在印迹膜上观测到。

推荐应用:

- 直接在印迹膜上测定近似分子量,或通过化学发光、荧光或显色检测系统间接测定近似分子量
- 转印效率的定性评估

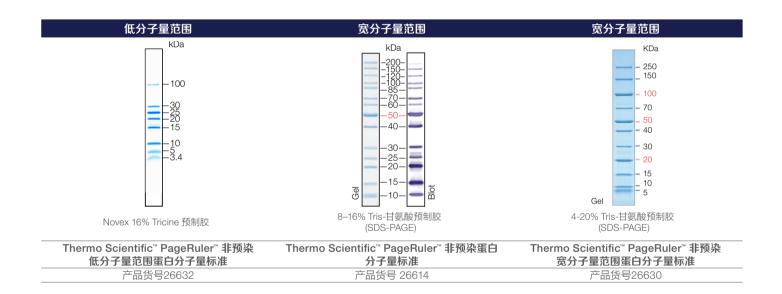


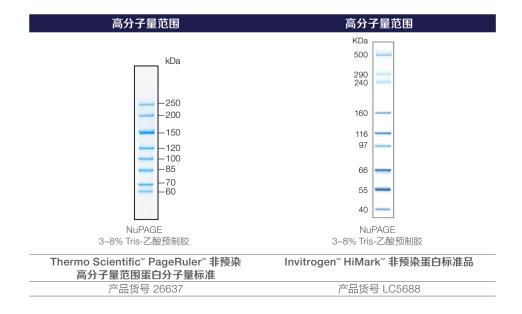
非预染蛋白分子量标准

当您需要精准测定目标蛋白的分子量大小时,非预染蛋白分子量标准会很有用。但只有使用考马斯染料或其它总蛋白染料染色后,才能看到这些蛋白。预染蛋白分子量标准中的染料会增加蛋白条带的分子量,从而影响其迁移。每种染料分子可能不会同等地结合到一个或多个特定蛋白上,而且一些预染蛋白分子量标准用了多种不同类型的彩色染料(为了更容易追踪蛋白分子量标准中的特定蛋白)。由于预染蛋白分子量标准中多了染料,特定蛋白分子量标准的真实分子量就被改变了,因此实际上展现的是表观分子量。非预染蛋白分

子量标准则不存在这个问题,因为蛋白分子量标准中的蛋白 迁移不受染料的影响,所以可按照正常速率迁移(尽管在不同的凝胶系统中会观察到差异),因此适用于蛋白样品分子量的精确测定。

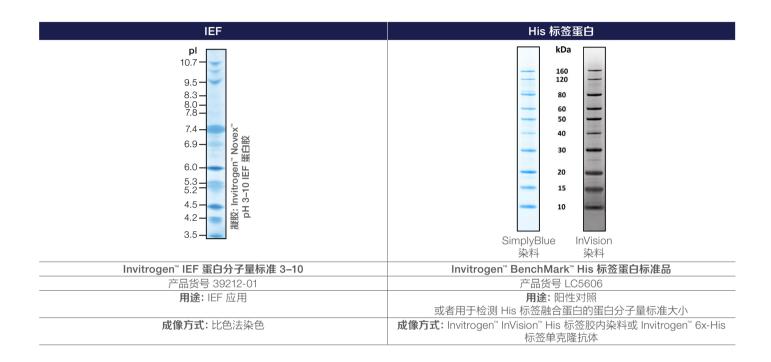
如下即用型蛋白分子量标准由已知分子量的多种蛋白组成。 在 SDS-PAGE 凝胶上用考马斯亮蓝 R250 染色后,即可看 到蛋白分子量标准,也可在转印后用丽春红或类似的染料对 膜进行染色,将蛋白分子量标准可视化。





等电聚焦 (IEF) 和特殊蛋白分子量标准

用于等电聚焦 (IEF), 或当实验涉及组氨酸 (His) 标签蛋白的检测时使用的蛋白分子量标准。



电泳槽和电源的选择

在电学术语中,电泳过程与以下方程(源自欧姆定律)密切相关:

电压 = 电流 × 电阻 (V = I x R)

功率 = 电流 × 电压 (W = I x V)



电阻

电泳槽的电阻取决于缓冲液的电导率、凝胶厚度、温度和电泳的凝胶数量。尽管凝胶系统决定了起始电阻大小,但是电泳过程中电阻会有所变化。

- 在不连续的缓冲液系统(在连续缓冲液系统中的变化程度较小)中,电阻会随着电泳过程而增加。在 Tris-甘氨酸缓冲液系统中,出现这个现象的原因是凝胶中高导电的氯离子被电泳缓冲液中导电性较低的甘氨酸离子所替代。
- 随着温度的增加, 电阻会下降。

电压

电场中离子的移动速度与场强(每单位距离的伏特)成正比。 电压越高,离子移动速度越快。**我们推荐在大部分应用中采 用恒压电泳**。

- 恒压设置会使电流和功率在电泳过程中逐渐降低,如果发生系统中断的情况,也保有一定安全性。
- 对于电泳凝胶的数量和厚度方面的差异,恒压设置无需据 此调整。

申流

在某一特定的凝胶与缓冲液系统中,以及一定的温度条件下,电流大小与场强(电压)和横截面积(凝胶厚度和数量)成正比。当使用恒定的电流设置时,蛋白的迁移一开始缓慢,但随着时间的推移,迁移速度会加快,因此有利于蛋白在不连续的凝胶中堆积。

在恒定电流下运行电泳时,应在电源上按照最高电压或稍高于最高电压设置一个电压限值,以避免危险。在恒定电流下,电压会随电阻的增加而增加。如果发生局部故障情况(例如,接触不良),较高的局部电阻可能会导致电压达到电源的最大值,从而引发电泳槽过热和损坏。

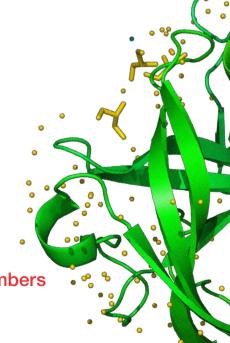
功率

功率可衡量能量转换的速率,表现为系统产生的热量。使用恒定功率可确保系统产生的总热量在整个电泳过程中保持恒定,但由于在电泳过程中电压增加而电流减小,因此导致迁移率出现变化。恒定功率通常在电泳 IEF 胶条时使用。使用恒定功率时,设置的电压限值可略高于最高预期电压值。局部电阻过高会导致在短距离内产生大量热量,从而损坏电泳槽和凝胶。

电泳槽系统选择指南

我们的电泳槽系统与 Invitrogen 系列的全部凝胶产品相兼容。请参考下表,找到适合您的电泳槽系统。

| | Mini Gel Tank小型 电泳槽 | XCell <i>SureLock</i> 小型电泳系统 | SureLock Tandem 中型电泳槽 | XCell4 <i>SureLock</i> 中型电泳槽 |
|-------------------------------------|---|--|--|---|
| | More dest fand | XCell SureLock** | | SCell & Symbole* Multi-Cell |
| 凝胶容量 | 最多 2 块小型胶 | 最多 2 块小型胶 | 最多 2 块中型胶 | 最多 4 块中型胶 |
| 设备尺寸(长 x 宽 x 高; 其中高 度含盖子) | 32 x 11.5 x 16 cm | 14 x 13 x 16 cm | 25 × 17.9 × 17.3 cm | 21 x 19 x 16 cm |
| 优势 | • Mini Gel Tank 采用独特的 并排式槽室设计, 可方便并 排进行凝胶上样, 也便于观 察和比较电泳过程 | 易于组装,小巧的设计帮助 节省台面空间 搭配 XCell II Blot Module 可进行快速蛋白湿转 | 简单易用,每块凝胶都有独立槽室,可节省电源缓冲液的用量 搭配 SureLock Tandem Midi | 通量高,可容纳最多 4 块 NuPAGE 中型胶,同时运行 100 份样品的电泳 更加简单易用、性能可靠 |
| | 搭配 Mini Blot Module 可进行快速蛋白湿转 | | Blot Module 可进行快速蛋白湿转, 无需预冷和冰浴 | |



获取更多信息, 请浏览 thermofisher.com/electrophoresischambers

Mini Gel Tank 小型电泳槽

独特的并排式槽室设计

与传统电泳槽相比, Mini Gel Tank 小型电泳槽的操作更直观且简单。该电泳槽采用独特的并排式设计, 让您可以同时使用 1 块或 2 块小型胶进行电泳。

Mini Gel Tank 小型电泳槽的优势包括:

- 轻松上样 一 凝胶的上样孔朝向使用者
- 同时观测两块凝胶 一 流线型并排式电泳槽设计
- 軽松监测凝胶 ─ 白色背板使预染蛋白分子量标准的观测更加清晰直观
- 节省缓冲液用量 槽室独立,运行 1 块胶时仅需在 1 个槽室加入电泳缓冲液
- 兼容我们的所有小型胶 包括 Invitrogen™ NuPAGE™、
 Novex™ 预制胶和 SureCast™ 手灌胶



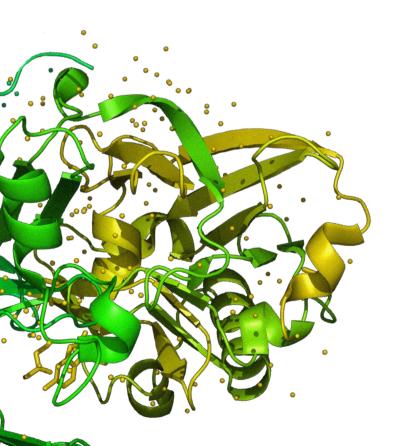
性能规格

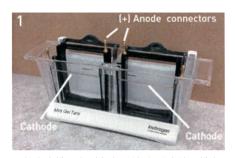
- 凝胶容量: 最多 2 块小型胶
- 设备尺寸(长 x 宽 x 高): 32 x 11.5 x 16 cm (帯盖高度)
- 缓冲液用量: 400 mL(每个槽室)
- 材质: 聚碳酸酯
- 化学耐受性:不耐受丙酮、氯化烃类(如氯仿)或芳香烃类(如甲苯、苯)



观看 Mini Gel Tank 小型电泳槽的操作演示,请浏览 thermofisher.com/minigeltank。

获取更多信息,请浏览 thermofisher.com/minigeltank





1. 将电泳槽固定到底座,并将凝胶夹放入槽室中,阳极接头(+)对准电泳槽中心。向槽室中添加 1X 缓冲液至阴极高度。



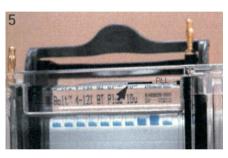
2. 取下电泳梳, 并撕去胶盒底部的胶带。用 1X 缓冲液冲洗上样孔 3 次。



将胶盒放入槽室中,上样孔朝向您自己。握住胶盒使其不会掉落,同时将凝胶夹手柄往前拉固定住胶盒。



4. 确保上样孔中完全充满了 1X 缓冲液。将样 品和蛋白分子量标准上样。



5. 握住胶盒, 松开凝胶夹。轻轻下滑胶盒, 使其 靠在槽室底部, 然后将凝胶夹手柄往前拉, 固 定凝胶盒。添加 1X 缓冲液至填充线。



6. 确保电源处于关闭状态。如果只电泳一块凝 胶,取出闲置槽室中的凝胶夹。将电泳槽盖 上盖子,并将电源线连接到电源。打开电源, 开始电泳。

图 25. 如何使用 Mini Gel Tank 小型电泳槽。

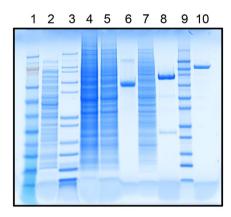


图 26. 使用 Mini Gel Tank 小型电泳槽运行 Bolt 预制胶的电泳。首先分别将 10 μL 的蛋白标准品和样本上样到 Invitrogen ™ Bolt™ 4-12% BisTris Plus 预制胶,然后使用 Mini Gel Tank 在 200 V 恒压下进行电泳。使用 Invitrogen™ SimplyBlue™ 染色后,可以观察到迁移模式一致、锐利且平直的条带,最后使用平板扫描仪获取图像。**泳道 1:** SeeBlue Plus2 预染色标准品;**泳道 2:** 10 μg 大肠杆菌裂解物;**泳道 3:** Invitrogen™ Mark12™ 非预染标准品(12 种纯化蛋白的混合物);**泳道 4:** 40 μg HeLa 细胞裂解物;**泳道 5:** 20 μg HeLa 细胞裂解物;**泳道 6:** 5 μg BSA;**泳道 7:** 40 μg Jurkat 细胞裂解物;**泳道 8:** 5 μg GST 融合蛋白;**泳道 9:** Invitrogen™ Novex™ Sharp非预染蛋白标准品;泳**道 10:** 5 μg β-半乳糖苷酶。



推荐产品

Invitrogen[™] Mini Blot Module 模块是一种湿式转印设备,可以方便地安装在 Mini Gel Tank 的槽室中,轻松将蛋白从小型胶转印到硝酸纤维素膜或 PVDF 膜上。

XCell SureLock 小型电泳槽

同时电泳 2块小型胶,节省台面空间

Invitrogen[™] XCell SureLock[™] 小型电泳槽设计独特,可以让您快速又轻松地进行小型胶电泳(图 27)。凝胶张力楔的紧密固定作用能确保每次凝胶电泳的顺利完成。 XCell SureLock小型电泳槽可兼容 NuPAGE、Novex 和特殊凝胶(图 28)。

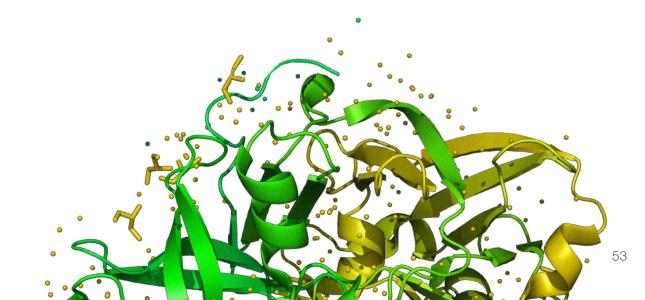
XCell SureLock 小型电泳槽的主要特点:

- 易用型设计 凝胶张力楔可轻松固定凝胶
- 灵活方便 可同时电泳 2 块小型胶
- 独特散热设计 无需额外的冷却装置
- 节省台面空间 电泳槽的设计紧凑小巧
- 兼容我们的所有小型胶 包括 Invitrogen™ NuPAGE™、
 Novex™ 预制胶和 SureCast™ 手灌胶



- 凝胶容量, 最多 2 块小型胶
- 设备尺寸(长 x 宽 x 高): 14 x 13 x 16 cm (帯盖高度)
- 槽室缓冲液用量(Invitrogen 小型胶):
 - 上槽室: 200 mL
 - 下槽室: 600 mL
- 化学耐受性: 耐受大多数的醇类,不耐受丙酮、氯化烃类 (如氯仿)或芳香烃类(如甲苯、苯)。

获取更多信息,请浏览 thermofisher.com/surelockmini

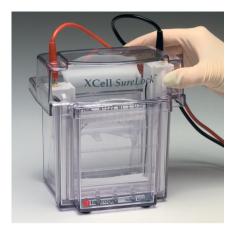




1. 将缓冲芯放入 XCell SureLock 小型槽系统的下槽室。在缓冲芯的前面插入一个小型胶, 在缓冲芯的后面插入第二个小型胶或缓冲挡板。



2. 将凝胶张力楔锁定到位,上样,然后向槽室添加适量的电泳缓冲液。



3. 将电泳槽盖上盖子, 就可以开始电泳了。

图 27.如何使用 XCell SureLock 小型电泳槽。

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10



使用 XCell SureLock 小型槽系统 电泳的 NuPAGE Bis-Tris 预制胶

图 28.使用 XCell SureLock 小型电泳槽对 NuPAGE Bis-Tris 预制胶进行电泳。泳道 1: SeeBlue Plus2 非预染标准品; **泳道 2:** 10 μg 大肠杆菌裂解物; **泳道 3:** Mark12 非预染标准品 (12 种纯化蛋白的混合物); **泳道 4:** 40 μg HeLa 细胞裂解物; **泳道 5:** 20 μg HeLa 细胞裂解物; **泳道 6:** 空; **泳道 7:** 40 μg Jurkat 细胞裂解物; **泳道 8:** 5 μg GST 融合蛋白; **泳道 9:** Novex Sharp 非预染蛋白标准品; **泳道 10:** 5 μg β-半乳糖苷酶。在 200 V(恒定) 下电泳凝胶,使用 SimplyBlue SafeStain 对凝胶进行染色,最后使用平板扫描仪获取图像。



推荐产品

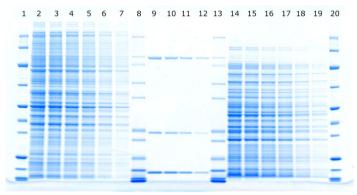
将 Invitrogen™ XCell II™ Blot 模块置入 XCell SureLock 小型电泳槽的下槽室,可以进行快速湿转,轻松地将蛋白从小型胶转印到膜上。

SureLock Tandem 中型电泳槽

将中型胶的电泳和转印合二为一

Invitrogen[™] SureLock[™] Tandem 中型电泳槽是一个不漏液的系统,仅需极少的缓冲液(约 520 mL/块凝胶),即可运行中型胶的快速电泳。组装只需大约 30 秒,电泳槽就可以有效地运行中型胶电泳,同时也提供稳定的性能。电泳槽具有两个独立槽室,可以同时对一块或两块凝胶进行电泳,这样既可节省缓冲液也能限制废液量。

SureLock Tandem 中型电泳槽与 SureLock Tandem 中型印迹模块搭配使用,可用于湿式转印。SureLock Tandem 中型印迹模块可在室温下进行高效的蛋白湿转,为下游的免疫印迹分析做好准备。电泳槽可容纳两个印迹模块,可以同时转印一块或两块凝胶,比其它湿式转印系统使用的缓冲液少得多(每次转印只需约 300 mL 缓冲液)。更少的缓冲液用量使得属于有害物质的甲醇废液也很少。



NuPAGE Bis-Tris 4-12% 中型梯度预制胶

图 29.使用 NuPAGE Bis-Tris 4-12% 中型预制胶和 SureLock Tandem 中型胶电泳槽,可以获得发表级的蛋白电泳结果。 凝胶上样方式如下: 泳道 1、20: 5 μ L PageRuler 宽范围非预染蛋白分子量标准 (货号 26630); 泳 道 2–7: 10 μ g、8 μ g、6 μ g、4 μ g、2 μ g、1 μ g HeLa 裂解物; 泳道 8 和 13: 5 μ L Novex Mark12 非预染标准品 (货号 LC5677); 泳道 9-12: 240 ng、180 ng、120 ng、60 ng 含有 β -半乳糖苷酶、乳酸脱氢酶、溶菌酶的蛋白混合物; 泳道 14–19: 10 μ g、8 μ g、6 μ g、4 μ g、2 μ g、1 μ g 大肠杆菌裂解物。用 NuPAGE MOPS 电泳缓冲液进行电泳,并使用 SimplyBlue Safe Stain 染色。



SureLock™ Tandem 中型电泳槽的主要特点:

- 双功能设备 可在同一个槽内完成电泳和转印
- **两个槽室独立** 运行 1 块或 2 块凝胶的电泳或转印时, 每 块凝胶只需加入必要的缓冲液用量, 可最大程度降低缓冲液 成本和废液产生
- 室温下转印 无需预冷缓冲液和繁琐的冰浴处理
- **易用型设计** 一 可以轻松组装和上样,操作简单,无需空胶 盒或缓冲挡板
- 兼容性好 兼容所有的 Invitrogen 中型预制胶

性能规格

- 凝胶容量: 最多 2 块中型胶 (8 x 13 mm)
- 设备尺寸(长 x 宽 x 高): 25 x 17.9 x 17.3 cm (带盖高度)
- 缓冲液用量.
 - 上槽室: 170 mL (每块凝胶)
 - 下槽室: 350 mL(每块凝胶)
- 化学耐受性: 耐受大多数醇类, 不耐受氯化烃类(如氯仿)、 芳香烃类(如甲苯、苯)、丙酮或异丙醇

XCell4 SureLock 中型电泳槽

最多可同时电泳 4 块中型胶

Invitrogen™ XCell4 SureLock™ 中型电泳槽可以同时进行 1-4 块中型胶的电泳,并且性能稳定。该系统的设计是为了有效而均匀地散热,并在使用 Invitrogen™ Novex™ 中型胶时获得高分辨率的结果(图 30 和图 31)。

XCell4 SureLock 中型电泳槽的主要特点:

- 灵活方便 一 可同时电泳 1-4 块中型胶
- 独特散热设计 无需冷却装置
- 易用型设计 一 电泳时无需使用夹具或润滑脂
- 安全性高 一 盖子经特殊设计, 保证安全



性能规格

- 凝胶容量: 多达 4 块中型胶 (8 x 13 cm)
- 设备尺寸(长 x 宽 x 高): 21 x 19 x 16 cm (带盖高度)
- 缓冲液用量.
 - 上槽室: 175 mL x 4
 - 下槽室: 540-700 mL
- 化学耐受性:不耐受丙酮、氯化烃类(如氯仿)或芳香烃类 (如甲苯、苯)

获取更多信息, 请浏览 thermofisher.com/surelockmidi



XCell4 SureLock 中型电泳槽



- 1. 在未锁定的状态下, 将XCell4 SureLock 中型槽的胶盒组件插入中型槽系统底座的中心, 然后将胶盒组件下滑至 XCell4 SureLock 中型槽的底座突起上。
- 2. 系统中共有两个缓冲芯, 在每个缓冲芯的两侧, 各放一个 胶盒。每个胶盒 "上样孔" 的较短一侧必须朝向下槽室。
- 3. 在握住胶盒组件的同时 (A),将带胶盒的缓冲芯插入下槽室,使负极对准下槽室上的金板开口 (B)。按图中所示,始终握住胶盒组件的边缘。



注意: 如果无法将胶盒组件插入下槽室, 请确保缓冲芯的阴极 (黑色极性指示标) 与下槽室的阴极 (黑色极性指示标) 对系

- 4. 上槽室(阴极)是在凝胶和缓冲芯之间形成的空隙,位于每个缓冲芯的中心。
- 5. 将张力杆移到锁定位置 (在 XCell4 SureLock 胶盒组件上标明),锁定 XCell4 SureLock 胶盒组件。这样可以把凝胶和缓冲芯挤压在一起,形成无泄漏的密封圈。
- 6. 然后您可以继续上样并添加缓冲液。

图 30. 如何使用 XCell4 SureLock 中型槽运行 4 块凝胶的电泳。

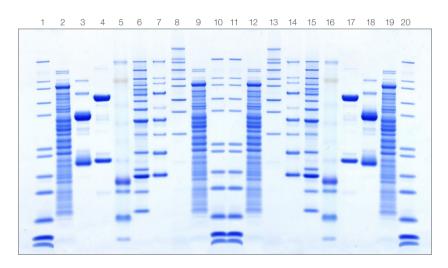


图 31.使用 Invitrogen™ NuPAGE™ 4-12% Bis-Tris 中型预制胶分离各类蛋白标准品、裂解物和纯化蛋白的条带质量。使用XCell4 *SureLock* 中型电泳槽和 MES 电泳缓冲液在 200 V 恒压下进行电泳。电泳后,使用 SimplyBlue SafeStain 将凝胶染色,再用水脱色,并使用平板扫描仪成像,最终可以观察到锐利 平直的条带。**泳道 1、10、11、20:** 5 μL Mark12 非预染标准品(12 种纯化蛋白的混合物);**泳道 2、9、12、19:** 10 μg 大肠杆菌裂解物;**泳道 3、18:** 6 μg 人 lgG; **泳道 4、17:** 6 μg 人 lgM; **泳道 5、16:** 5 μL SeeBlue Plus2 非预染蛋白标准品;**泳道 6、15:** 5 μL Invitrogen™ BenchMark™ 蛋白分子量标准;**泳道 7、14:** 15 μL Invitrogen™ MagicMark™ XP Western 蛋白标准品;**泳道 8、13:** 5 μL Invitrogen™ HiMark™ 非预染蛋白标准品。

PowerEase Touch 触屏电泳仪电源

大尺寸触屏, 流畅使用体验

Invitrogen[™] PowerEase[™] Touch 电泳仪电源配备先进的 4.3 英寸背光 LCD 触摸屏和用户界面,即可轻松自定义流程,也可在多种预设的凝胶电泳和转印方法中直接选择。这款电泳仪电源十分适用于DNA 电泳、RNA 电泳、SDS-PAGE 和非变性 PAGE。PowerEase Touch 电泳仪电源提供了四对可同时使用的输出端口和三种模式(恒定电压模式、恒定电流模式和恒定功率模式),可灵活使用并提高效率。聚氨酯材料制作的支脚坚固可靠,可叠放的外壳设计允许叠放多个电源,节省实验台的空间。

- **使用简单**—LCD 触摸屏和用户操作界面具有清晰的菜单提示,用户可以用手或触屏笔轻松操作,方便监测运行进度
- 实用高效—四对输出端口,可同时运行多个电泳槽



- 强大的程序设置功能—最多可设置 100 组方法, 每组方法可包含 20 个步骤, 每个步骤最长运行 999 分钟, 可以从预设 Invitrogen 凝胶电泳和转印方法中选择
- **安全性高**—具有自动检测空载、过热、过压、过流、过载、 负载变化以及地漏等功能

PowerEase Touch 触屏电泳仪电源选择指南

| | PowerEase Touch 120W 电泳仪电源 | PowerEase Touch 350W 电泳仪电源 | PowerEase Touch 600W 电泳仪电源 |
|------|--|--|--|
| 应用 | 运行 1-4 块小型凝胶或 1-2 块中型凝胶的电泳, 1-2 块小型凝胶的电泳等印, RNA/DNA 电泳 | 运行多达 12 块小型凝胶或者 8 块中型凝胶的电泳, 8 块小型凝胶或者 4 块中型凝胶的转印, RNA/DNA 电泳 | 运行多达 16 块小型凝胶或者14 块中型凝胶的电泳, 8 块小型凝胶 或者 4 块中型凝胶的转印, IEF凝 胶, RNA/DNA 电泳 |
| 输出电压 | 2-300 V | 2-300 V | 2–500 V |
| 输出电流 | 1–500 mA | 1 mA-3A | 1 mA-3A |
| 功率 | 120 W | 350 W | 600 W |
| 运行模式 | 恒流, 恒压, 恒功率 | 恒流, 恒压, 恒功率 | 恒流, 恒压, 恒功率 |
| 显示屏 | LCD 触摸屏 | LCD 触摸屏 | LCD 触摸屏 |
| 货号 | PS0123 | PS0353 | PS0603 |

获取更多信息,请浏览 thermofisher.com/powerease

运行凝胶电泳

凝胶电泳条件

在 Invitrogen 小型电泳槽系统中运行小型胶的条件

| | 电压 (V) | 大致电泳时间(分钟) |
|---|--------|------------|
| Bolt 4-12% Bis-Tris Plus 预制胶 (MES 缓冲液) | 200 | 20 |
| Bolt 4-12% Bis-Tris Plus 预制胶 (MOPS 缓冲液) | 200 | 35 |
| NuPAGE 4-12% Bis-Tris 预制胶 (MES 缓冲液) | 200 | 30 |
| NuPAGE 4-12% Bis-Tris 预制胶 (MOPS 缓冲液) | 200 | 42 |
| Novex Tris-甘氨酸预制胶, WedgeWell 楔形孔(变性) | 225 | 25–40 |
| Novex Tris-甘氨酸预制胶, WedgeWell 楔形孔(非变性) | 125 | 60–90 |
| NuPAGE 3-8% Tris-Z酸预制胶(变性) | 150 | 50 |
| NuPAGE 3-8% Tris-Z酸预制胶(非变性) | 150 | 100 |
| Novex 10-20% Tricine 预制胶 | 125 | 65 |
| NativePAGE 3-12% 预制胶 | 150 | 80 |
| | 100 | 60 |
| Novex IEF 预制胶, pH 3-10 | 200 | 60 |
| | 500 | 30 |
| Novex 10% Zymogram Plus 预制胶(明胶) | 125 | 90 |

注意: 电泳时间可能因电源和凝胶百分比而变化。

在 Invitrogen 中型电泳槽系统中运行中型胶的条件

| • | | | |
|---|--------|------------|--|
| | 电压 (V) | 大致电泳时间(分钟) | |
| NuPAGE Bis-Tris 预制胶 (MES 缓冲液) | 200 | 30 | |
| NuPAGE Bis-Tris 预制胶 (MOPS 缓冲液) | 200 | 40 | |
| Novex Tris-甘氨酸 Plus 预制胶(变性) | 200 | 60 | |
| Novex Tris-甘氨酸 Plus 预制胶(非变性) | 125 | 120 | |
| NuPAGE Tris-Z酸预制胶(变性) | 150 | 60 | |
| NuPAGE Tris-Z酸预制胶(非变性) | 150 | 135 | |

注意: 电泳时间可能因电源和凝胶百分比而变化。

凝胶染色

蛋白染料

在电泳分离出蛋白条带后,用不同的凝胶内检测方法可以直接观察到这些条带。在过去的几十年里,提高灵敏度以及要与下游应用和检测仪器兼容的需求推动了多种基本染色方法的发展。每种方法都有各自独特的优点和缺点,其中某些方法能在各种情况下都有优异的表现。

根据使蛋白可视化的分子, 可以将这些染料分为:

考马斯染料

- Thermo Scientific™ PageBlue™ 蛋白染料
- Invitrogen™ SimplyBlue™ SafeStain 蛋白染料
- Thermo Scientific™ Imperial™ 蛋白染料

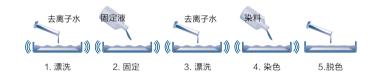
银染试剂

- Thermo Scientific™ Pierce™ 银染试剂盒
- Invitrogen™ SilverXpress™ 银染试剂盒
- Thermo Scientific[™] Pierce[™] 质谱兼容型银染试剂盒

荧光染料和特殊染料

- Invitrogen™ SYPRO™ Orange、SYPRO Red、SYPRO Ruby 凝胶染料
- Thermo Scientific™ Pierce™ 可逆蛋白染色试剂盒(用于硝酸纤维素或 PVDF 膜)
- Invitrogen™ Pro-Q™ Emerald 糖蛋白染料
- Invitrogen™ Pro-Q™ Diamond 磷蛋白染料

为了能看到蛋白,必须对凝胶内的蛋白进行蛋白特异性的、染料结合或显色等化学反应。根据染料的特殊化学性质,需要采取各种步骤将蛋白固定在基质中,并促进必要的化学反应。大多数染色方法都包括通用的孵育步骤:



- 清洗去除凝胶基质中的电泳缓冲液
- 使用酸或酒精清洗来调节或固定凝胶,限制蛋白条带从基质中扩散
- 用染料处理, 使染料扩散到凝胶中并与蛋白结合或反应
- 脱色以去除背景凝胶基质中多余的染料

用特殊染色方法可以一步实现两个或更多的功能。例如,用酸性缓冲液配制的染料可以在一个步骤中有效地固定和染色。有时则相反,某些功能的实现需要多个步骤。例如,银染需要染色步骤和显影步骤,才能最终生成显色产物。

基于考马斯染料的蛋白凝胶染色

便捷的即用型试剂, 非永久性化学修饰

最常见的凝胶内蛋白检测方法是使用考马斯染料进行染色,这类染料通常是基于 G-250(胶体)或 R-250。配制的胶体 考马斯染料可以在一小时内有效地对蛋白进行染色,并且只需用水即可脱色,无需使用甲醇或醋酸。

主要特点:

- 简单 考马斯染料的配方简单, 使用广泛
- **方便** 只需将凝胶浸泡在染色液中, 然后脱色即可观察 到蛋白条带
- 经济 一 考马斯染料价格便宜
- 灵活 可用于定性显色、定量密度测定、凝胶切除
- 和质谱分析



我们的考马斯染料可提高蛋白检测的灵敏度,且流程简化。下表为SimplyBlue SafeStain(图 32、35、36)、Imperial 蛋白染料(图 33、37)和 PageBlue 蛋白染料(图 34)的染色方案和案例数据。

基于考马斯染料的蛋白凝胶染色

| | SimplyBlue SafeStain | Imperial 蛋白染料 | PageBlue 蛋白染料 |
|----------|----------------------|------------------|---------------|
| 类型 | G-250 | R-250 | G-250 |
| 检测下限 | >7 ng | 3 ng | 5 ng |
| 染色时间* | 12 分钟 | 12 分钟 | 30 分钟 |
| 是否适用于 | | | |
| - PVDF 膜 | 是 | 是 | 是 |
| - 硝酸纤维素膜 | 否 | 否 | 否 |
| 是否可重复使用 | 否 | 否 | 是(最多3次) |
| 是否兼容质谱 | 是 | 是 | 是 |
| 颜色 | 紫色 | 紫色 | 蓝绿色 |
| | • 不含甲醇和乙酸 | • 染色效果比考马斯 G-250 | • 不含甲醇和乙酸 |
| 优势 | • 染色过程快速、灵敏、完全无毒 | 染料更好 | • 染料划算且快速灵敏 |
| | (无需甲醇,醋酸固定剂或脱色 | • 蛋白检测快速、灵敏度 | |
| | 剂) | 超高 | |

^{*} 使用微波炉方案的大致染色时间

实验方案

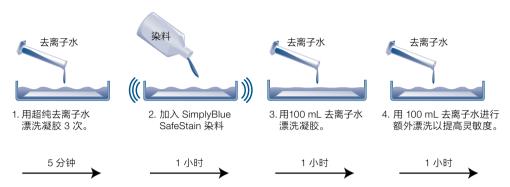


图 32. SimplyBlue SafeStain 的染色方案。



图 33. Imperial 蛋白染料的染色方案。

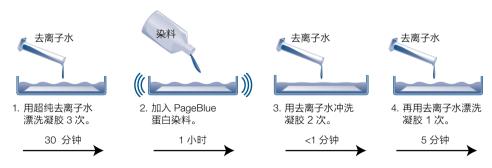


图 34. PageBlue 蛋白染料的染色方案。



染色性能



2 3 4 5 6 7 8 9 10

图 35.使用 SimplyBlue SafeStain 染色获得的高灵敏结果。以下样品在 Invitrogen™ NuPAGE™ 4-12% Bis-Tris 预制胶上分离,然后用 SimplyBlue SafeStain 染色。泳道 1:6 μg 蛋白混合物; 泳道 2:1 μg 兔 lgG; 泳道 3:1 μg 还原 BSA; 泳道 4:5 μg 大肠杆菌裂解物; 泳道 5:20 ng 还原 BSA; 泳道 6:10 ng 还原 BSA; 泳道 7:7 ng 还原 BSA; 泳道 8:3 ng 还原 BSA; 泳道 9:10 μL Invitrogen™ Mark12™ 非预染标准品(12 种纯化蛋白的混合物); 泳道 10:5 μL Mark12 非预染标准品。



图 36. 菠菜叶绿体提取物的二维电泳分析;用 SimplyBlue SafeStain 染色。 菠菜叶绿体提取物在 Invitrogen™ ZOOM™ IEF 组分分离器中完成预分离,然后使用窄 pH 范围的 Invitrogen™ ZOOM™ IPG 胶条和 Invitrogen™ NuPAGE™ 4-12% Bis-Tris ZOOM™ 预制胶进行 2D 电泳,分离各种组分,最终使用 SimplyBlue SafeStain 对凝胶进行染色。

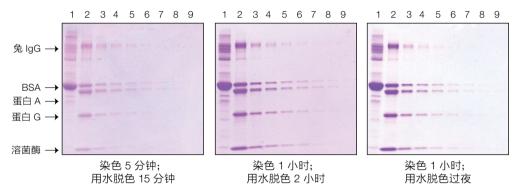


图 37.使用 Imperial 蛋白染料可增强灵敏度并且获得清晰的背景。要获得更高的灵敏度并降低背景噪音,可以用 Imperial 蛋白染料: 将凝胶染色 1 小时,然后用水漂洗 至少1 小时,或者过夜。**泳道 1:** 仅有BSA(6 μg); **泳道 2-9:** 分别添加 1,000 ng、200 ng、100 ng、50 ng、25 ng、12 ng、6 ng 和 3 ng 蛋白。



小知识

在银染之前用考马斯染料进行染色,可以使某些蛋白的染色更加均匀,因为银离子可以与某些官能团相互作用,如羧酸基、咪唑、巯基和胺基。

银染

遵循优化的实验方案可实现超灵敏染色

银染在检测总蛋白的方法中是最灵敏的比色法,原理是在蛋白条带的位置沉积金属银。银离子(染色试剂中的硝酸银)与某些蛋白官能团相互作用并结合,其中相互作用最强的是羧酸基(Asp 和 Glu)、咪唑 (His)、巯基 (Cys) 和胺基 (Lys)。各种敏化剂和增强剂对于控制银离子与蛋白结合的特异性和高效率,以及结合金属银的有效转化(显影)起到关键作用。

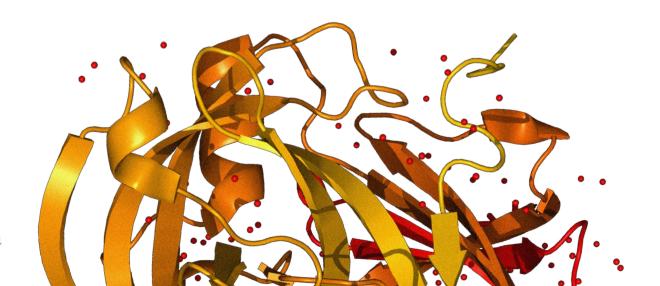
主要特点:

- **灵敏度高** 银染法的灵敏度是很高的,可以使亚纳克级别的蛋白可视化
- **方便使用** 银染经过优化后步骤更少, 并且相当灵活, 可以适用短时间或长时间的实验方案
- **兼容性好** 我们采用温和的化学配方, 确保与质谱分析和测序兼容
- 性能强大 实验方案详细,帮助获得一致且背景清晰的结果



我们提供的银染方案灵敏度高,实验方案时间短,并且适用于质谱分析。Invitrogen™ SilverXpress™ 银染试剂盒具有纳克级的灵敏度,背景极低(图 38 和图 39),而 Thermo Scientific™ Pierce™ 银染试剂盒有多种灵活搭配的实验方案(图 40 和图 41)。

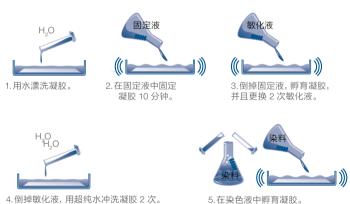
获取更多信息, 请浏览 thermofisher.com/silverstains



银染试剂盒

| | 质谱兼容的 Pierce 银染试剂盒 | Pierce 银染试剂盒 | SilverXpress 银染试剂盒 |
|--------|--|--------------------------------------|--------------------|
| 组份(步骤) | 6 (7) | 4 (7) | 5 (9) |
| 染色时长 | 1 小时 13 分钟 | 1 小时 30 分钟 | 2 小时 |
| 蛋白检测下限 | 0.25 ng | 0.25 ng | 0.86 ng |
| 是否兼容质谱 | 是 | 是 | 是 |
| 存储条件 | 室温 | 室温 | 4 ℃ |
| 稳定性 | 1 年 | 1 年 | 6 个月 |
| 优势 | • 能快速灵敏地对蛋白凝胶进行染色和脱色 | • 快速、超灵敏、多用途染色系统 | • 银染实验灵敏度达到纳克级, 背 |
| | • 在质谱分析应用中, 优化了凝胶内胰蛋白酶 消化后的肽段回收率 | • 灵活的凝胶固定方案(30分钟- 过夜)和染色方案(5分钟-20 | 景极低 |
| | • 灵活的凝胶固定方案 (15-30 分钟至过夜) 和染色方案 (1-30 分钟) | 小时) | |

实验方案和染色性能





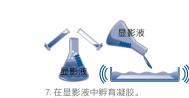


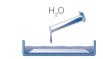
图 39.使用 SilverXpress 银染试剂盒可获得水晶般清晰的背景。样品 在 NuPAGE 4-12% Bis-Tris 预制胶上分离,并用 SilverXpress 试剂盒染 色。**泳道 1、10:** Mark12 非预染标准品(12 种纯化蛋白的混合物),稀 释比 1:4; **泳道 2:** Mark12 非预染标准品, 稀释比 1:8; **泳道 3:** Mark12 非预染标准品,稀释比 1:16; 泳道 4: Mark12 非预染标准品,稀释 比 1:32; **泳道 5:** Mark12 非预染标准品, 稀释比 1:64; **泳道 6:** 1.6 ng BSA; **泳道 7:** 0.8 ng BSA; **泳道 8:** 大肠杆菌裂解物, 稀释比 1:20; **泳**

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10



8. 当达到所需的染色强度时, 直接向 凝胶中加入终止液。

6.倒掉染料, 用超纯水冲洗凝胶 2 次。



9. 倒掉终止液, 用超纯水清洗凝胶 3 次。

图 38.SilverXpress 银染试剂盒的染色方案。



2.在乙醇/乙酸中固定 2 次, 每次 15 分钟。 1. 用超纯水漂洗 2 次, 每次 5 分钟。



4.混合敏化剂。敏化 1 分钟。 漂洗 2 次,每次 1 分钟。



5.混合银染试剂。染色5分钟。漂洗2次,每次20秒。

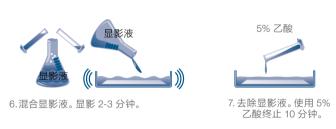


图 40.Pierce 银染试剂盒的染色方案。

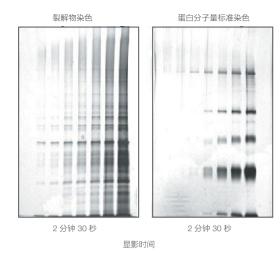


图 41.Pierce 银染试剂盒展现出优异的灵敏度。在标准小型胶中,每个条带 或每个点的蛋白检测限约为 0.25 ng。



荧光蛋白凝胶染色

快速、高灵敏度的荧光染料,用于电泳后的总蛋白检测

荧光凝胶染料专为 1D 和 2D PAGE 而设计, 灵敏度与银染方法相近。Invitrogen™ SYPRO™ 蛋白染料是易于使用的荧光染料, 可用于检测电泳分离的蛋白。染色的蛋白可以用紫外光、蓝光透射仪、或激光扫描仪来观察。

特点:

- 简单 无需脱色或计时步骤, 操作时间极短
- 定量 一 线性定量范围超过两个数量级, 蛋白间差异小
- 灵敏 通常比考马斯染料更灵敏, 与银染试剂的灵敏度相当



SYPRO 蛋白染料

| | SYPRO Ruby 染料 | SYPRO Orange 染料 | SYPRO Red 染料 |
|-----------|----------------------------|------------------------------|----------------------------|
| 蛋白检测下限 | 0.25 ng | 4–8 ng | 4–8 ng |
| 染色和脱色时间 | 微波 90 分钟; 标准 18 小时 | 约 1 小时 | 约 1 小时 |
| 激发波长/发射波长 | 280 nm, 450/610 nm | 300 nm, 470/510 nm | 300 nm, 550/630 nm |
| 易用性 | 即用型工作液 | 浓缩液 | 浓缩液 |
| 兼容的应用 | 质谱分析、等电聚焦 (IEF)、2D 凝胶、膜上染色 | 质谱分析、等电聚焦(IEF)、2D凝胶、 膜上染色 | 质谱分析、等电聚焦 (IEF)、2D 凝胶、膜上染色 |

特殊蛋白染料

特殊蛋白染料包括凝胶内磷蛋白检测染色试剂盒和糖蛋白检测染色试剂盒。

特殊蛋白染料

| | Pro-Q Emerald 488 糖蛋白凝胶和 印迹染色试剂盒 | Pro-Q Emerald 300 糖蛋白凝胶和 印迹染色试剂盒 | Pro-Q Diamond 糖蛋白凝胶染色 试剂盒 |
|-----------|-------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------|
| 检测目标 | 糖蛋白 | 糖蛋白 | 磷蛋白 |
| 灵敏度 | 4 ng 糖蛋白/条带 | 0.5 ng 糖蛋白/条带 | 1-16 ng 磷蛋白/条带 |
| 染色和脱色时间 | 约 6 小时 | 约5小时 | 4-5 小时 |
| 激发波长/发射波长 | 510/520 nm | 280/530 nm | 555/580 nm |
| 特点 | 对糖蛋白选择性染色 | 对糖蛋白选择性染色 | 对磷蛋白选择性染色 |

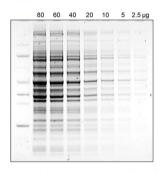
获取更多信息, 请浏览 thermofisher.com/specialtystains

No-Stain 免染型蛋白标记试剂

即刻观察凝胶中的总蛋白

Invitrogen™ No-Stain™ 免染型蛋白标记试剂是一种灵活、准确、快速和可靠的方法,用于可视化和归一化凝胶中或印迹膜上的蛋白。它能够在 10 分钟内与凝胶或膜上蛋白中的赖氨酸残基形成共价键,无需脱色,速度远远快于考马斯染色或者其它凝胶染色方法。使用常用的成像仪,便能够立即观察到结果,灵敏度达到纳克级别(图 42)。No-Stain 试剂无需特定种类的凝胶或其它试剂,适用于任何凝胶染料和免疫印迹工作流程。





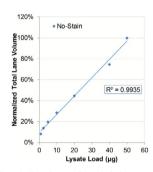


图 42.使用 No-Stain 蛋白标记试剂对凝胶进行定量分析。将含有 2.5 μg-80 μg 蛋白的 HeLa 细胞裂解物上样至 Bolt 4-12% Bis-Tris Plus 预制胶中,再用 MES 电泳缓冲液进行电泳。电泳后,用 No-Stain 蛋白标记试剂在凝胶中标记蛋白,并使用 Invitrogen™ iBright™ 成像仪对凝胶成像。该成像仪的激发波长为490 nm-520 nm,发射滤光片为565 nm-615 nm。

如需了解使用 No-Stain 标记试剂进行定量免疫印迹的总蛋白归一化信息,请浏览 thermofisher.com/nostain

免疫印迹

转印和检测

电泳后,分离的蛋白被转印到第二个基质上,通常是硝酸纤维素膜或聚偏氟乙烯(PVDF)膜。接下来膜会被封闭,尽可能减少抗体与膜表面的非特异性结合。

免疫印迹工作流程的蛋白检测步骤各不相同,其中常见的区别是直接检测方法与间接检测方法。无论是直接检测方法还是间接检测方法,都会用到特异性抗体(一抗)检测封闭过的膜上的目的蛋白(抗原)。在直接检测方法中,这种一抗标记了酶或标记荧光团。但是,在间接检测方法中,首先抗体(一抗)能够特异性结合封闭膜上的抗原,然后由抗宿主的另一抗体(二抗)结合一抗。这种二抗通常被酶标记或被荧光团标记。直接检测法没有得到广泛使用,大多数研究者更喜欢间接检测法,原因有很多,包括工作流程的灵活性、标记选择的广泛性,以及可能节约了一抗的成本并提高检测灵敏度。

辣根过氧化物酶 (HRP) 或碱性磷酸酶 (AP) 是免疫印迹工作流程中最常用的抗体标记酶。将膜与单个或多个检测抗体孵育后,如果使用了酶标记的抗体,加入适当的底物(显色底物或化学发光底物),就会有可检测的结果。常用的底物是化学发光底物;当它与酶结合时,会产生副产物——光,可

以在 X 光胶片或成像仪上捕获到。近年来,荧光检测成为酶 法检测的热门替代方法,因为它可以完成更多定量蛋白的数 据分析。荧光检测方法使用荧光染料标记的一抗或者二抗,并使用适当的成像系统捕捉信号输出。无论使用哪种检测方 法,信号的强度都与转印膜上抗原的丰度相关。

我们提供种类丰富且质量可靠的试剂、试剂盒、仪器和抗体,助您加快完成免疫印迹分析的每一步。



下载《蛋白转印与印迹检测技术手册》,请浏览 thermofisher.com/westernhandbook

免疫印迹转印的主要产品



免疫印迹孵育和检测的主要产品



手动印迹检测

即用型封闭液

漂洗液

去垢剂

信号增强剂

ECL 底物

一抗和二抗

抗体剥离液

X 光胶片



获取更多信息,请浏览 thermofisher.com/westernblot

附录

常见问题排查指南

样品制备

蛋白凝胶电泳

| 观察结果 | | 可能原因 | 解决建议 |
|------------------------|--|--|---|
| 蛋白条带难以分辨; 泳道有条纹, 且不平直。 | | 泳道的蛋白上样量过多 | 降低上样量。在 10、12、15 或 17 孔的小型胶中, 获得最佳分辨率的最高推荐上样量是每个条带 0.5 µg 细胞裂解物, 或每条泳道约 10-15 µg 细胞裂解物。 |
| 样品粘稠; 样品泳道边缘 | | 凝胶电泳过程中, 样品中的盐(硫 | 透析样品,降低盐浓度。使用小型透析装置,如 Thermo Scientific [™] Slide-A-Lyzer [™] 小型透析装置,0.5 mL (货号 88401)。 |
| 有条纹; 哑铃形条带; 泳道 变宽 | | 酸铵)过多。 | 电泳前,将样品浓缩并重悬于低盐缓冲液中。使用小容量浓缩管,如 Thermo Scientific™ Pierce™ 蛋白浓缩器 PES, 0.5 mL(货号 88513)。 |
| | | | 确保样品中的盐浓度不超过 100 mM。 |
| 蛋白聚集导致泳道狭窄, 无法解读 | | DNA 污染: 细胞裂解物中的基因组 DNA 可能导致样品变粘, 造成蛋白聚集, 从而影响蛋白迁移模式和分辨率 | 在上样前,剪切基因组 DNA,降低粘度。 |
| | | 凝胶电泳样品中的盐(氯化钠)浓度过高。高盐浓度会导致电导率增大,从而影响蛋白的迁移,并可能导致蛋白条带扩散到相邻泳道中,影响盐浓度正常的样品的电泳。 | 透析样品,降低盐浓度。使用小型透析装置,如 Slide-A-Lyzer 小型透析装置, 0.5 mL(货号 88401)。 电泳前,将样品浓缩并重悬于低盐缓冲液中。使用小 |
| | | | 容量浓缩管, 如 Pierce 蛋白浓缩管 PES, 0.5 mL (货号 88513)。 |
| | | | 确保样品中的盐浓度不超过 100 mM。 |
| 样品泳道不均匀; 泳道变宽 | | 凝胶电泳样品中的去垢剂浓度过高 (例如,SDS 或 Triton X-100 去垢 剂)。去垢剂与凝胶中的阴离子去 垢剂 SDS 形成混合胶束,向下迁 | 非离子去垢剂的比例为 10:1 或更高,以尽可能地降低这个影响。 |
| | | 移到凝胶中;它们会干扰 SDS-蛋白的结合平衡性。 | 使用去垢剂去除离心柱或 Thermo Scientific™ Pierce™ SDS-PAGE 样品制备试剂盒 (货号 89888) 来去除多余的去垢剂。 |
| | | 高浓度的 RIPA 缓冲液导致电泳过程中泳道变宽和出现明显条纹。 | 电泳前稀释样品,降低裂解缓冲液的最终浓度,避免由缓冲液引发的问题。 |
| 泳道边缘有阴影 | | 裂解缓冲液或上样缓冲液中的还 原剂过多 | 需要控制 SDS-PAGE 的还原剂的最终浓度, 其中 DTT (二硫苏糖醇) 和 TCEP (三 $(2- $ |

电泳

| 观察结果 | 可能原因 | 解决建议 |
|---------------------------|----------------------|--|
| 在推荐电压下, 电泳时间太长 | 电泳缓冲液浓度过低 | 电泳缓冲液应新鲜制备,不推荐多次重复使用。 |
| 在推荐电压下, 电流太高, 产生过 多的热量 | 电泳缓冲液浓度过高 | 电泳缓冲液应新鲜制备,稀释至 1X 后使用。 |
| 在推荐电压下, 电流太低或没 有电流 | 电路未闭合 | 电泳前,将预制胶胶盒底部的胶带撕掉。确保缓冲液填满上样孔;检查缓冲芯上的电线连接。 |
| | 样品过量 | 减少蛋白上样量。 |
| | 样品中盐浓度过高 | 采用透析或凝胶过滤的方式降低样品的盐浓度。 |
| 蛋白拖尾 | 样品有沉淀物 | 增加样品中 SDS 的浓度。 |
| | 样品有污染物, 如脂类或 DNA 复合物 | 离心或纯化样品,去除污染物颗粒。用核酸酶处理样品。 |
| | 手灌凝胶的质量不好 | 确保手灌胶的均匀性和一致性。 |
| | 蛋白样品仅部分变性 | 使蛋白完全变性。 |
| 条带模糊 | 蛋白样品仅部分还原 | 确保加入足够量的 DTT 或 β-巯基乙醇。 |
| | 凝胶电泳时间过长 | 观察染料迁移,作为适当电泳时间的指标。 |
| | 样品上样量过高,导致堆积不完全 | 样品的上样量要恰当。如果样品浓度过低,可用超滤法浓缩。 |
| | 电泳期间电场不稳定 | 如果蛋白浓度已知, 尽量确保上样是对称的。 |
| 哑铃形条带或"微笑"条带 | 分离胶的表面不平整 | 灌胶时,尽量确保分离胶表面平整。 |
| | 凝胶已过期 | 在规定的有效期内使用凝胶。注意: NuPAGE 预制胶的保质期长达 12 个月,最大程度地减少了凝胶失效的风险。 |

蛋白电泳槽系统

Mini Gel Tank 小型电泳槽的问题排查

| 观察结果 | 可能原因 | 解决建议 |
|----------------|-------------------|-----------------------------|
| | 缓冲液浓度过低 | 检查缓冲液配方;必要时用储备缓冲液重新稀释或重新配置。 |
| 电泳时间比平时长 | 电泳槽漏液 | 确保凝胶夹牢牢固定, 胶条正确放置, 且锁定了凝胶夹。 |
| | 电流设置过低 | 正确设置电流。 |
| | 胶带还留在胶盒底部 | 将胶盒底部的胶带撕掉。 |
| 电源上的电流读数为零或非常低 | 电源连接不完全 | 用电压表检查所有连接处的导电性。 |
| | 缓冲液量不够 | 确保电泳槽中有足够的缓冲液来填满所有上样孔。 |
| 电泳速度比平时快,且分辨率差 | 缓冲液浓度太高或浓度不当 | 检查缓冲液配方;必要时用储备缓冲液重新稀释或重新配置。 |
| 电 | 电流设置到了上限值 | 降低电流至建议的电泳条件(参见62页)。 |
| 看不到上样孔, 无法上样 | 上样孔和凝胶的其它部分之间无法区分 | 将胶盒放入电泳槽之前,用记号笔在上样孔底部标记胶盒。 |

XCell SureLock 小型电泳槽的问题排查

| 观察结果 | 可能原因 | 解决建议 |
|------------------------|-------------------|--|
| | 缓冲液浓度过低 | 检查缓冲液是否正确稀释。检查缓冲液配方;必要时用储备缓冲液重新稀释或重新配置。 |
| 电泳时间比平时长 | 上槽室漏液 | 确保缓冲芯牢牢固定,胶条正确放置,且锁定了凝胶张力杆。 |
| | 电压设置过低 | 正确设置电压 |
| | 胶带还留在胶盒底部 | 将胶盒底部的胶带撕掉。 |
| 电源上的电流读数为零或非常低 | 电源连接不完全 | 用电压表检查所有连接处的导电性。 |
| | 缓冲液量不够 | 确保上缓冲液(阴极)填满凝胶的上样孔。确保下槽室有足够的缓冲液来填满凝胶底部的槽。 |
| 电泳速度比平时快, 目分辨率差 | 缓冲液浓度太高或浓度不适当 | 检查缓冲液配方;必要时用储备缓冲液重新稀释或重新配置。 |
| 电冰 压反比于时伏,且万辨学左 | 电压、电流或功率设置到了上限值 | 降低功率条件至建议的电泳条件(参见62页)。 |
| 看不到上样孔,无法上样 | 上样孔和凝胶的其它部分之间无法区分 | 在组装上槽室之前,用记号笔在上样孔的底部标记胶盒。在 XCell SureLock 电泳槽的正后方,用光源照亮工作区域。 |

SureLock Tandem 中型电泳槽的问题排查

| 观察结果 | 可能原因 | 解决建议 |
|-------------------------|-----------------------|--|
| | 缓冲液浓度过低 | 检查缓冲液配方,不推荐多次重复使用缓冲液,必要时重新制备缓冲液。 |
| 电泳时间比平时长 | 电泳槽漏液 | 确保凝胶夹牢牢固定,胶条正确放置,且锁定了凝胶夹。 |
| | 电压或电流设置过低 | 正确设置电压和/或电流。更多详细信息,请参见用户指南" 凝胶电泳方案 " (第 10 页)中的"电泳条件"。 |
| | 电泳缓冲液选择不当或浓度过高 | 检查缓冲液配方, 必要时稀释或重新制备缓冲液。 |
| 电泳速度比平时快,且分辨率差 | 电压或电流设置过高 | 降低电压和/或电流至推荐的电泳条件。更多详细信息,请参见用户指南" 凝胶电泳方案"(第10页)中的"电泳条件"。 |
| | 胶带还留在胶盒底部 | 将胶盒的胶条撕掉。 |
| | 电源连接不完全 | 用电压表检查所有连接处的导电性。注意:如果没有受过这方面的专业培训,请不要自行检查连接。请联系技术支持,获得进一步帮助。 |
| 电源上的电流读数为零或非常低 | 缓冲液用量不够 | 确保电泳槽中有足够缓冲液。阴极(内部)槽室需要填充到上样孔以上(约170 mL),阳极(外部)槽室需要填充到红色填充线(约350 mL)。了解更多信息,请参见用户指南"凝胶电泳方案"(第12页)中的"用电泳缓冲液填充电泳槽和上样孔"。 |
| 看不到上样孔, 无法上样 | 上样孔和凝胶的其它部分之间无法 区分 | 将胶盒放入电泳槽之前,用记号笔在上样孔底部标记胶盒。 |
| | 用一个电源同时运行太多块凝胶 | 检查正在使用的电源的功率上限,必要时使用额外的电源。 |
| | 胶盒没有正确夹住 | 确保凝胶夹牢牢固定,胶条正确放置,凝胶夹处于锁定位置。更多详细信息,请参见用户指南"凝胶电泳方案"(第 11 页)中的"插入胶盒"。 |
| 电源上的电流读数比预期的高得多,或已达到最大值 | 电泳槽中的电泳缓冲液装得过多 | 如果缓冲液的高度高于凝胶的高度,阴极阳极槽室就会直接接触,导致短路。 确保适当的缓冲液用量。阴极缓冲液的高度应填满上样孔,但不应超过凝胶的高度(约 170 mL)。阳极缓冲液的高度应填充到电泳槽外壳标示的红色填充线(约 350 mL)。请参见用户指南" 凝胶电泳方案 "(第 12 页)中的"用电泳缓冲液填充电泳槽和上样孔"。 |
| 蛋白没有讦移到凝胶中 | 胶盒在电泳槽中装反了 | 朝正确的方向安装胶盒,上样孔的开口朝向阴极(电泳槽的中心)。 |
| 虫口仅针红梦到烶肞屮 | 电源线的连接方向反了 | 朝正确的方向安装电源线(红对红,黑对黑)。 |

获取电泳实验方案

如需了解关于我们各种凝胶产品及其用途的详细信息,请浏览这些介绍产品使用方法的链接。

- Bolt Bis-Tris Plus 小型胶
- NuPAGE Bis-Tris 小型胶
- NuPAGE Bis-Tris 中型胶
- NuPAGE Tris-Z酸小型胶
- NuPAGE Tris-乙酸中型胶
- Novex Tris-甘氨酸小型胶 (WedgeWell 形式)

- Novex Tris-甘氨酸 Plus 中型胶
- NativePAGE Bis-Tris 胶
- Novex Tricine 凝胶
- Novex IEF 凝胶
- Zymogram Plus 凝胶

订购信息

| 产品 | 规格 | 产品货号 |
|------------------------------------|------|----------|
| 蛋白预制胶迎新套装 | WID. | 7 0000 3 |
| NuPAGE Bis-Tris 胶迎新套装, 10%, 10 孔 | 1套 | NP030A |
| NuPAGE Bis-Tris 胶迎新套装, 10%, 12 孔 | 1套 | NP030B |
| NuPAGE Bis-Tris 胶迎新套装, 10%, 15 孔 | 1套 | NP030C |
| NuPAGE Bis-Tris 胶迎新套装, 12%, 10 孔 | 1套 | NP034A |
| NuPAGE Bis-Tris 胶迎新套装, 12%, 12 孔 | 1套 | NP034B |
| NuPAGE Bis-Tris 胶迎新套装, 12%, 15 孔 | 1套 | NP034C |
| NuPAGE Bis-Tris 胶迎新套装, 4-12%, 10 孔 | 1套 | NP032A |
| NuPAGE Bis-Tris 胶迎新套装, 4-12%, 12 孔 | 1套 | NP032B |
| NuPAGE Bis-Tris 胶迎新套装, 4-12%, 15 孔 | 1套 | NP032C |
| NuPAGE Tris-乙酸胶迎新套装, 3-8%, 10 孔 | 1套 | EA0375A |
| NuPAGE Tris-乙酸胶迎新套装, 3-8%, 12 孔 | 1套 | EA0375B |
| NuPAGE Tris-乙酸胶迎新套装, 3-8%, 15 孔 | 1套 | EA0375C |
| NuPAGE Tris-乙酸胶迎新套装, 7%, 10 孔 | 1套 | EA0355A |
| NuPAGE Tris-乙酸胶迎新套装, 7%, 12 孔 | 1套 | EA0355B |
| NuPAGE Tris-乙酸胶迎新套装, 7%, 15 孔 | 1套 | EA0355C |
| Novex Tricine 胶迎新套装, 10%, 10 孔 | 1套 | EC6675A |
| Novex Tricine 胶迎新套装, 10%, 12 孔 | 1套 | EC6675B |
| Novex Tricine 胶迎新套装, 16%, 10 孔 | 1套 | EC6695A |
| Novex Tricine 胶迎新套装, 16%, 12 孔 | 1套 | EC6695B |
| Novex Tricine 胶迎新套装, 16%, 15 孔 | 1套 | EC6695C |
| Novex Tricine 胶迎新套装, 10-20%, 10 孔 | 1套 | EC6625A |
| Novex Tricine 胶迎新套装, 10-20%, 12 孔 | 1套 | EC6625B |
| Novex Tricine 胶迎新套装, 10-20%, 15 孔 | 1套 | EC6625C |

| 产品 | 规格 | 产品货号 |
|---|-------|---------|
| 蛋白预制胶迎新套装 | ,,,,, | |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 6%, 10 孔 | 1套 | XP0006A |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 6%, 12 孔 | 1套 | XP0006B |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 6%, 15 孔 | 1套 | XP0006C |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 8%, 10 孔 | 1套 | XP0008A |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 8%, 12 孔 | 1套 | XP0008B |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 8%, 15 孔 | 1套 | XP0008C |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 10%, 10 孔 | 1套 | XP0010A |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 10%, 12 孔 | 1套 | XP0010B |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 10%, 15 孔 | 1套 | XP0010C |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 12%, 10 孔 | 1套 | XP0012A |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 12%, 12 孔 | 1套 | XP0012B |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 12%, 15 孔 | 1套 | XP0012C |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 14%, 10 孔 | 1套 | XP0014A |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 14%, 12 孔 | 1套 | XP0014B |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 14%, 15 孔 | 1套 | XP0014C |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 16%, 10 孔 | 1套 | XP0016A |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 16%, 12 孔 | 1套 | XP0016B |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 16%, 15 孔 | 1套 | XP0016C |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 4-12%, 10 孔 | 1套 | XP0412A |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 4-12%, 12 孔 | 1套 | XP0412B |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 4-12%, 15 孔 | 1套 | XP0412C |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 4-20%, 10 孔 | 1套 | XP0420A |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 4-20%, 12 孔 | 1套 | XP0420B |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 4-20%, 15 孔 | 1套 | XP0420C |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 8-16%, 10 孔 | 1套 | XP0816A |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 8-16%, 12 孔 | 1套 | XP0816B |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 8-16%, 15 孔 | 1套 | XP0816C |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 10-20%, 10 孔 | 1套 | XP1020A |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 10-20%, 12 孔 | 1套 | XP1020B |
| Novex WedgeWell Tris-甘氨酸胶迎新套装, 10-20%, 15 孔 | 1套 | XP1020C |
| Bolt 预制胶迎新套装 A (4-12%, 10 孔) | 1套 | NW0412A |
| Bolt 预制胶迎新套装 B (4-12%, 15 孔) | 1套 | NW0412B |
| Bolt 预制胶迎新套装, 4-12%, 12 孔 | 1套 | NW0412C |
| Bolt 预制胶迎新套装, 10%, 10 孔 | 1套 | NW0010A |
| Bolt 预制胶迎新套装, 10%, 12 孔 | 1套 | NW0010B |
| Bolt 预制胶迎新套装, 10%, 15 孔 | 1套 | NW0010C |
| Bolt 预制胶迎新套装, 12%, 10 孔 | 1套 | NW0012A |
| Bolt 预制胶迎新套装, 12%, 12 孔 | 1套 | NW0012B |
| Bolt 预制胶迎新套装, 12%, 15 孔 | 1套 | NW0012C |
| Bolt 预制胶迎新套装, 8%, 10 孔 | 1套 | NW0008A |
| Bolt 预制胶迎新套装, 8%, 12 孔 | 1套 | NW0008B |
| Bolt 预制胶迎新套装, 8%, 15 孔 | 1套 | NW0008C |

获取更多信息,请浏览 thermofisher.com/proteingelwelcome

| 产品 | 规格 | 产品货号 |
|--|------|------------------------|
| NuPAGE Bis-Tris 小型胶 (8 x 8 cm) | | |
| NuPAGE 10% Bis-Tris 小型胶, 1.0 mm, 1 孔 | 10 块 | NP0304BOX |
| NuPAGE 10% Bis-Tris 小型胶, 1.0 mm, 10 孔 | 10 块 | NP0301BOX |
| NuPAGE 10% Bis-Tris 小型胶, 1.0 mm, 10 孔 | 2 块 | NP0301PK2 |
| NuPAGE 10% Bis-Tris 小型胶, 1.0 mm, 12 孔 | 10 块 | NP0302BOX |
| NuPAGE 10% Bis-Tris 小型胶, 1.0 mm, 12 孔 | 2 块 | NP0302PK2 |
| NuPAGE 10% Bis-Tris 小型胶, 1.0 mm, 15 孔 | 10 块 | NP0303BOX |
| NuPAGE 10% Bis-Tris 小型胶, 1.0 mm, 9 孔 | 10 块 | NP0307BOX |
| NuPAGE 10% Bis-Tris 小型胶, 1.5 mm, 10 孔 | 10 块 | NP0315BOX |
| NuPAGE 10% Bis-Tris 小型胶, 1.5 mm, 15 孔 | 10 块 | NP0316BOX |
| NuPAGE 12% Bis-Tris 小型胶, 1.0 mm, 1 孔 | 10 块 | NP0344BOX |
| NuPAGE 12% Bis-Tris 小型胶, 1.0 mm, 10 孔 | 10 块 | NP0341BOX |
| NuPAGE 12% Bis-Tris 小型胶, 1.0 mm, 10 孔 | 2 块 | NP0341PK2 |
| NuPAGE 12% Bis-Tris 小型胶, 1.0 mm, 12 孔 | 10 块 | NP0342BOX |
| NuPAGE 12% Bis-Tris 小型胶, 1.0 mm, 12 孔 | 2 块 | NP0342PK2 |
| NuPAGE 12% Bis-Tris 小型胶, 1.0 mm, 15 孔 | 10 块 | NP0343BOX |
| NuPAGE 12% Bis-Tris 小型胶, 1.0 mm, 17 孔 | 10 块 | NP0349BOX |
| NuPAGE 4-12% Bis-Tris 小型胶, 1.0 mm, 1 孔 | 10 块 | NP0324BOX |
| NuPAGE 4-12% Bis-Tris 小型胶, 1.0 mm, 10 孔 | 10 块 | NP0321BOX |
| NuPAGE 4-12% Bis-Tris 小型胶, 1.0 mm, 10 孔 | 2块 | NP0321PK2 |
| NuPAGE 4-12% Bis-Tris 小型胶, 1.0 mm, 12 孔 | 10 块 | NP0322BOX |
| NuPAGE 4-12% Bis-Tris 小型胶, 1.0 mm, 12 孔 | 2 块 | NP0322PK2 |
| NuPAGE 4-12% Bis-Tris 小型胶, 1.0 mm, 15 孔 | 10 块 | NP0323BOX |
| NuPAGE 4-12% Bis-Tris 小型胶, 1.0 mm, 15 孔 | 2块 | NP0323PK2 |
| NuPAGE 4-12% Bis-Tris 小型胶, 1.0 mm, 17 孔 | 10 块 | NP0329BOX |
| NuPAGE 4-12% Bis-Tris 小型胶, 1.0 mm, 17 孔 | 2块 | NP0329PK2 |
| NuPAGE 4-12% Bis-Tris 小型胶, 1.0 mm, 9 孔 | 10 块 | NP0327BOX |
| NuPAGE 4-12% Bis-Tris 小型胶, 1.5 mm, 10 孔 | 10 块 | NP0335BOX NP0335PK2 |
| NuPAGE 4-12% Bis-Tris 小型胶, 1.5 mm, 10 孔 NuPAGE 4-12% Bis-Tris 小型胶, 1.5 mm, 15 孔 | 2块 | NP0335PK2 NP0336BOX |
| | 10 块 | |
| NuPAGE 4-12% Bis-Tris 小型胶, 1.5 mm, 15 孔 | 2 块 | NP0336PK2 |
| NuPAGE Bis-Tris 中型胶 (8 x 13 cm) | | |
| NuPAGE 10% Bis-Tris 中型胶, 12+2 孔 | 10 块 | WG1201BOX |
| NuPAGE 10% Bis-Tris 中型胶, 12+2 孔, 带适配器 | 10 块 | WG1201A |
| NuPAGE 10% Bis-Tris 中型胶, 20 孔 | 10 块 | WG1202BOX |
| NuPAGE 10% Bis-Tris 中型胶, 20 孔, 带适配器 | 10 块 | WG1202A |
| NuPAGE 10% Bis-Tris 中型胶, 26 孔 | 10 块 | WG1203BOX |
| NuPAGE 10% Bis-Tris 中型胶, 26 孔, 带适配器 | 10 块 | WG1203A |
| NuPAGE 4-12% Bis-Tris 中型胶, 12+2 孔 | 10 块 | WG1401BOX |
| NuPAGE 4-12% Bis-Tris 中型胶, 12+2 孔, 带适 配器 | 10 块 | WG1401A |
| NuPAGE 4-12% Bis-Tris 中型胶, 20 孔 | 10 块 | WG1402BOX |
| NuPAGE 4-12% Bis-Tris 中型胶, 20 孔, 带适配器 | 10 块 | WG1402A |
| NuPAGE 4-12% Bis-Tris 中型胶, 26 孔 | 10 块 | WG1403BOX |
| NuPAGE 4-12% Bis-Tris 中型胶, 26 孔, 带适配器 | 10 块 | WG1403A |
| NuPAGE 8% Bis-Tris 中型胶, 12+2 孔 | 10 块 | WG1001BOX |
| NuPAGE 8% Bis-Tris 中型胶, 12+2 孔, 带适配器 | 10 块 | WG1001A |
| NuPAGE 8% Bis-Tris 中型胶, 20 孔 | 10 块 | WG1002BOX |
| | | |

| 产品 | 规格 | 产品货号 |
|--|------|---------------|
| NuPAGE 8% Bis-Tris 中型胶, 20 孔, 带适配器 | 10 块 | WG1002A |
| NuPAGE 8% Bis-Tris 中型胶, 26 孔 | 10 块 | WG1003BOX |
| NuPAGE 8% Bis-Tris 中型胶, 26 孔, 带适配器 | 10 块 | WG1003A |
| Novex Tris-甘氨酸小型胶 (WedgeWell 楔形孔) | | |
| Novex 6% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 10 孔 | 10 块 | XP00060BOX |
| Novex 6% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 12 孔 | 10 块 | XP00062BOX |
| Novex 6% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 15 孔 | 10 块 | XP00065BOX |
| Novex 8% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 10 孔 | 10 块 | XP00080BOX |
| Novex 8% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 12 孔 | 10 块 | XP00082BOX |
| Novex 8% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 15 孔 | 10 块 | XP00085BOX |
| Novex 10% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 10 孔 | 10 块 | XP00100BOX |
| Novex 10% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 12 孔 | 10 块 | XP00102BOX |
| Novex 10% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 15 孔 | 10 块 | XP00105BOX |
| Novex 10% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 10 孔 | 2 块 | XP00100PK2 |
| Novex 12% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 10 孔 | 10 块 | XP00120BOX |
| Novex 12% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 12 孔 | 10 块 | XP00122BOX |
| Novex 12% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 15 孔 | 10 块 | XP00125BOX |
| Novex 14% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 10 孔 | 10 块 | XP00140BOX |
| Novex 14% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 12 孔 | 10 块 | XP00142BOX |
| Novex 14% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 15 孔 | 10 块 | XP00145BOX |
| Novex 16% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 10 孔 | 10 块 | XP00160BOX |
| Novex 16% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 12 孔 | 10 块 | XP00162BOX |
| Novex 16% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 15 孔 | 10 块 | XP00165BOX |
| Novex 4-12% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 10 孔 | 10 块 | XP04120BOX |
| Novex 4-12% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 12 孔 | 10 块 | XP04122BOX |
| Novex 4-12% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 15 孔 | 10 块 | XP04125BOX |
| Novex 4-12% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 10 孔 | 2 块 | XP04120PK2 |
| Novex 4-20% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 10 孔 | 10 块 | XP04200BOX |
| Novex 4-20% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 12 孔 | 10 块 | XP04202BOX |
| Novex 4-20% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 15 孔 | 10 块 | XP04205BOX |
| Novex 4-20% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 10 孔 | 2 块 | XP04200PK2 |
| Novex 8-16% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 10 孔 | 10 块 | XP08160BOX |
| Novex 8-16% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 12 孔 | 10 块 | XP08162BOX |
| Novex 8-16% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 15 孔 | 10 块 | XP08165BOX |
| Novex 10-20% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 10 孔 | 10 块 | XP10200BOX |
| Novex 10-20% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 12 孔 | 10 块 | XP10202BOX |
| Novex 10-20% Tris-甘氨酸小型胶, WedgeWell 孔, 15 孔 | 10 块 | XP10205BOX |
| | | , |

| NativePAGE 非变性预制胶 NativePAGE 3–12% Bis-Tris 预制胶, 1.0 mm, 10-孔 | | |
|--|------|------------|
| NativePAGE 3-12% Bis-Tris 预制胶, 1.0 mm, 10-孔 | | |
| | 10 块 | BN1001BOX |
| NativePAGE 4-16% Bis-Tris 预制胶, 1.0 mm, 10-孔 | 10 块 | BN1002BOX |
| NativePAGE 3-12% Bis-Tris 预制胶, 1.0 mm, 15-孔 | 10 块 | BN1003BOX |
| NativePAGE 4-16% Bis-Tris 预制胶, 1.0 mm, 15-孔 | 10 块 | BN1004BOX |
| Novex Tricine 预制胶 | | |
| Novex 10% Tricine 预制胶, 1.0 mm, 10-孔 | 10 块 | EC6675BOX |
| Novex 10% Tricine 预制胶, 1.0 mm, 12-孔 | 10 块 | EC66752BOX |
| Novex 16% Tricine 预制胶, 1.0 mm, 10-孔 | 10 块 | EC6695BOX |
| Novex 16% Tricine 预制胶, 1.0 mm, 12-孔 | 10 块 | EC66952BOX |
| Novex 16% Tricine 预制胶, 1.0 mm, 15-孔 | 10 块 | EC66955BOX |
| Novex 10-20% Tricine 预制胶, 1.0 mm, 10-孔 | 10 块 | EC6625BOX |
| Novex 10-20% Tricine 预制胶, 1.0 mm, 12-孔 | 10 块 | EC66252BOX |
| Novex 10-20% Tricine 预制胶, 1.0 mm, 15-孔 | 10 块 | EC66255BOX |
| Novex IEF 凝胶 | | |
| Novex pH 3-7 IEF 预制胶, 1.0 mm, 12-孔 | 5 块 | EC66452BOX |
| Novex pH 3-7 IEF 预制胶, 1.0 mm, 10-孔 | 5 块 | EC6645BOX |
| Novex pH 3-10 IEF 预制胶, 1.0 mm, 10-孔 | 5 块 | EC6655BOX |
| Bolt Bis-Tris Plus 预制胶 (8 x 8 cm) | | |
| Bolt 8% Bis-Tris Plus 预制胶, 10 孔 | 10 块 | NW00080BOX |
| Bolt 8% Bis-Tris Plus 预制胶, 12 孔 | 10 块 | NW00082BOX |
| Bolt 8% Bis-Tris Plus 预制胶, 15 孔 | 10 块 | NW00085BOX |
| Bolt 8% Bis-Tris Plus 预制胶, 17 孔 | 10 块 | NW00087BOX |
| Bolt 10% Bis-Tris Plus 预制胶, 10 孔 | 10 块 | NW00100BOX |
| Bolt 10% Bis-Tris Plus 预制胶, 12 孔 | 10 块 | NW00102BOX |
| Bolt 10% Bis-Tris Plus 预制胶, 15 孔 | 10 块 | NW00105BOX |
| Bolt 10% Bis-Tris Plus 预制胶, 17 孔 | 10 块 | NW00107BOX |
| Bolt 12% Bis-Tris Plus 预制胶, 10 孔 | 10 块 | NW00120BOX |
| Bolt 12% Bis-Tris Plus 预制胶, 12 孔 | 10 块 | NW00122BOX |
| Bolt 12% Bis-Tris Plus 预制胶, 15 孔 | 10 块 | NW00125BOX |
| Bolt 12% Bis-Tris Plus 预制胶, 17 孔 | 10 块 | NW00127BOX |
| Bolt 4-12% Bis-Tris Plus 预制胶, 10 孔 | 10 块 | NW04120BOX |
| Bolt 4-12% Bis-Tris Plus 预制胶, 12 孔 | 10 块 | NW04122BOX |
| Bolt 4-12% Bis-Tris Plus 预制胶, 15 孔 | 10 块 | NW04125BOX |
| Bolt 4-12% Bis-Tris Plus 预制胶, 17 孔 | 10 块 | NW04127BOX |
| Bolt 小型空凝胶盒 | 20 盒 | NW2010 |
| | 20个 | NW3010 |
| Bolt 小型空凝胶盒样品梳, 10 孔 | | |

| 产品 | 规格 | 产品货号 |
|--|-------------------|------------|
| Novex Zymogram Plus 预制胶 | | |
| Novex 10% Zymogram Plus (明胶)凝胶, 1.0 mm, 15 孔 | 10 块 | ZY00105BOX |
| Novex 10% Zymogram Plus (明胶) 凝胶, 1.0 mm, 12 孔 | 10 块 | ZY00102BOX |
| Novex 10% Zymogram Plus (明胶) 凝胶, 1.0 mm, 10 孔 | 10 块 | ZY00100BOX |
| E-PAGE 高通量凝胶系统 | | |
| E-PAGE 8% 蛋白凝胶, 48 孔 | 8 块 | EP04808 |
| E-Holder 平台 | 2台 | EH03 |
| E-PAGE 上样缓冲液 1 | 4.5 mL | EPBUF01 |
| E-PAGE 6% 蛋白凝胶, 96 孔 | 8 块 | EP09606 |
| E-Base 子设备 | 1台 | EBD03 |
| E-Base 母设备 | 1台 | EBM03 |
| 聚丙烯酰胺手灌胶 | | |
| SureCast 手灌胶套装 A | 多个 | HC1000SR |
| SureCast 手灌胶套装 B | 多个 | HC1000S |
| SureCast 制胶架 | 1个 | HC1000 |
| SureCast 玻璃板 | 2 对 | HC1001 |
| SureCast 密封垫 | 2 个 | HC1002 |
| SureCast 多功能工具, 10 孔 | 1台 | HC1010 |
| SureCast 多功能工具, 12 孔 | 1台 | HC1012 |
| SureCast 多功能工具, 15 孔 | 1台 | HC1015 |
| SureCast 凝胶垫片 | 10 片 | HC1003 |
| SureCast 浓缩胶缓冲液 | 2 x 500 mL 干粉包 | HC2112 |
| SureCast 浓缩胶缓冲液 | 5 x 500 mL 干粉包 | HC2115 |
| SureCast 分离胶缓冲液 | 2 x 500 mL 干粉包 | HC2212 |
| SureCast 分离胶缓冲液 | 5 x 500 mL 干粉包 | HC2215 |
| SureCast 过硫酸铵 (APS) | 25 g | HC2005 |
| SureCast 丙烯酰胺溶液, 40% | 450 mL | HC2040 |
| SureCast 四甲基乙二胺(TEMED) | 30 mL | HC2006 |
| | | |

| 产品 | 数量 | 产品货号 |
|--|---------|----------|
| SDS-PAGE 缓冲液 | | |
| NuPAGE MOPS SDS 电泳缓冲液 (20X) | 500 mL | NP0001 |
| NuPAGE MOPS SDS 电泳缓冲液 (20X) | 5 L | NP000102 |
| NuPAGE MES SDS 电泳缓冲液 (20X) | 5 L | NP000202 |
| NuPAGE MES SDS 电泳缓冲液 (20X) | 500 mL | NP0002 |
| NuPAGE MOPS SDS 缓冲液套装 | 1套 | NP0050 |
| NuPAGE MES SDS 缓冲液套装 | 1套 | NP0060 |
| NuPAGE LDS 上样缓冲液 (4X) | 10 mL | NP0007 |
| NuPAGE 抗氧化剂 | 15 mL | NP0005 |
| NuPAGE 转印缓冲液 (20X) | 125 mL | NP0006 |
| NuPAGE 转印缓冲液 (20X) | 1 L | NP00061 |
| Pierce SDS-PAGE 样品制备试剂盒 | 50 次反应 | 89888 |
| Bolt 转印缓冲液 (20X) | 125 mL | BT0006 |
| Bolt 转印缓冲液 (20X) | 1 L | BT00061 |
| 4X Bolt LDS 上样缓冲液 | 10 mL | B0007 |
| 20X Bolt MES SDS 电泳缓冲液 | 500 mL | B0002 |
| 20X Bolt MES SDS 电泳缓冲液 | 5 L | B0002-02 |
| 20X Bolt MOPS SDS 电泳缓冲液 | 500 mL | B0001 |
| 20X Bolt MOPS SDS 电泳缓冲液 | 5 L | B0001-02 |
| Bolt 抗氧化剂 | 15 mL | BT0005 |
| NuPAGE Tris-乙酸 SDS 电泳缓冲液 (20X) | 500 mL | LA0041 |
| Novex Tris-甘氨酸 SDS 电泳缓冲液 (10X) | 4 x 1 L | LC26754 |
| Novex Tris-甘氨酸 SDS 电泳缓冲液 (10X) | 500 mL | LC2675 |
| Novex Tris-甘氨酸 SDS 电泳缓冲液 (10X) | 5 L | LC26755 |
| Novex Tricine SDS 电泳缓冲液 (10X) | 500 mL | LC1675 |
| Novex Tricine SDS 样品缓冲液 (2X) | 20 mL | LC1676 |
| Novex Tris-甘氨酸 SDS 样品缓冲液 (2X) | 20 mL | LC2676 |
| Novex Tris-甘氨酸转印缓冲液 (25X) | 500 mL | LC3675 |
| Novex Tris-甘氨酸 SDS 缓冲液试剂盒 | 1套 | LC2677 |
| NuPAGE Tris-乙酸 SDS 缓冲液套装 (用于 Tris-乙酸预制胶),含 LA0041、NP0004、NP0005、NP0007 | 1套 | LA0050 |
| Novex Tricine SDS 缓冲液套装, 含 LC1676 和 LC1675 | 1套 | LC1677 |
| Pierce LDS 非还原性上样缓冲液 (4X) | 5 mL | 84788 |
| Pierce Lane Marker 非还原性上样缓冲液 | 5 mL | 39001 |
| Pierce 10X Tris-甘氨酸 SDS 缓冲液 | 1 L | 28362 |
| BupH Tris-甘氨酸缓冲液套装 | 40 包 | 28380 |

| 产品 | 数量 | 产品货号 |
|---|--------|--------|
| 非变性电泳缓冲液 | | |
| Novex Tris-甘氨酸非变性电泳缓冲液 (10X) | 500 mL | LC2672 |
| Novex Tris-甘氨酸非变性上样缓冲液 (2X) | 20 mL | LC2673 |
| NativePAGE 电泳缓冲液 (20X) | 1 L | BN2001 |
| NativePAGE 电泳缓冲液试剂盒 | 1套 | BN2007 |
| NativePAGE 阴极缓冲液添加剂 (20X) | 250 mL | BN2002 |
| NativePAGE 上样缓冲液 (4X) | 10 mL | BN2003 |
| NativePAGE 5% G-250 样品添加剂 | 0.5 mL | BN2004 |
| NativePAGE 样品制备试剂盒 | 1套 | BN2008 |
| DDM (n-十二烷基 β-D-麦芽糖苷) (10%) | 1 mL | BN2005 |
| 洋地黄皂苷 (5%) | 1 mL | BN2006 |
| 凝胶酶谱缓冲液 | | |
| Novex Zymogram 显影缓冲液 (10X) | 500 mL | LC2671 |
| Novex Zymogram 复性缓冲液 (10X) | 500 mL | LC2670 |
| 等电聚焦 (IEF) 缓冲液 | | |
| Novex IEF 阳极缓冲液 (50X) | 100 mL | LC5300 |
| Novex IEF 阴极缓冲液 pH 3-10 (10X) | 125 mL | LC5310 |
| Novex IEF 阴极缓冲液 pH 3-7 (10X) | 125 mL | LC5370 |
| Novex pH 3-10 IEF 缓冲液套装, 含 LC5300、LC5310、LC5311 | 1套 | LC5317 |
| Novex pH 3-7 IEF 缓冲液套装, 含 LC5300, LC5370, LC5371 | 1套 | LC5377 |
| Novex IEF 上样缓冲液 pH 3-10 (2X) | 25 mL | LC5311 |
| Novex IEF 上样缓冲液 pH 3-7 (2X) | 25 mL | LC5371 |

| 产品 | 数量 | 产品货号 |
|--------------------------------------|-------------|---------|
| 非预染蛋白标准品 | | |
| HiMark 非预染蛋白标准品 | 250 μL | LC5688 |
| PageRuler 非预染低分子量蛋白分子量标准 | 2 x 250 μL | 26632 |
| PageRuler 非预染蛋白分子量标准 | 2 x 250 μL | 26614 |
| 预染蛋白分子量标准 | | |
| PageRuler 预染蛋白分子量标准, 10-180 kDa | 2 x 250 μL | 26616 |
| PageRuler 预染蛋白分子量标准, 10-180 kDa | 10 x 250 μL | 26617 |
| PageRuler Plus 预染蛋白分子量标准, 10-250 kDa | 2 x 250 μL | 26619 |
| PageRuler Plus 预染蛋白分子量标准, 10-250 kDa | 10 x 250 μL | 26620 |
| Spectra 多色宽范围蛋白分子量标准 | 2 x 250 μL | 26634 |
| Spectra 多色宽范围蛋白分子量标准 | 10 x 250 μL | 26623 |
| HiMark 预染蛋白标准品 | 250 μL | LC5699 |
| Spectra 多色低分子量蛋白分子量标准 | 250 μL | 26628 |
| Spectra 多色高分子量蛋白分子量标准 | 2 x 250 μL | 26625 |
| SeeBlue 预染蛋白标准品 | 500 μL | LC5625 |
| SeeBlue Plus2 预染蛋白标准品 | 500 μL | LC5925 |
| 免疫印迹标准品 | | |
| iBright 预染蛋白分子量标准 | 2 x 250 mL | LC5615 |
| MagicMark XP 免疫印迹蛋白标准品 | 250 μL | LC5602 |
| 特殊标准品 | | |
| BenchMark His-标签蛋白标准品 | 125 µL | LC5606 |
| IEF Marker 3–10 | 500 μL | 3921201 |

| 产品 | 数量 | 产品货号 |
|-----------------------------------|------------|---------|
| 电泳槽和电源 | | |
| Mini Gel Tank 小型电泳槽 | 1 unit | A25977 |
| XCell SureLock 小型电泳槽 | 1 unit | EI0001 |
| SureLock Tandem 中型电泳槽 | 1 each | STM1001 |
| XCell4 SureLock 中型电泳槽 | 1 each | WR0100 |
| PowerEase Touch 600W 电源 (230 VAC) | 1 each | PS0603 |
| PowerEase Touch 350W 电源 (230 VAC) | 1 each | PS0353 |
| PowerEase Touch 120W 电源 (230 VAC) | 1 each | PS0123 |
| 考马斯染料 | | |
| SimplyBlue SafeStain 染料 | 1 L | LC6060 |
| SimplyBlue SafeStain 染料 | 3.5 L | LC6065 |
| Imperial 蛋白染料 | 1 L | 24615 |
| Imperial 蛋白染料 | 3 x 1 L | 24617 |
| 银染 | | |
| Pierce 银染试剂盒 | 1 L | 24612 |
| SilverXpress 银染试剂盒 | 1套 | LC6100 |
| Pierce 质谱兼容型银染试剂盒 | 1 L | 24600 |
| 荧光染料和特殊染料 | | |
| SYPRO Orange 蛋白凝胶染料 | 500 μL | S6650 |
| SYPRO Orange 蛋白凝胶染料 | 10 x 50 μL | S6651 |
| SYPRO Red 蛋白凝胶染料 | 500 μL | S6653 |
| SYPRO Red 蛋白凝胶染料 | 10 x 50 μL | S6654 |
| SYPRO Ruby 蛋白凝胶染料 | 1 L | S12000 |
| SYPRO Ruby 蛋白凝胶染料 | 200 mL | S12001 |
| SYPRO Ruby 蛋白凝胶染料 | 5 L | S21900 |
| Pro-Q Diamond 磷蛋白凝胶染料 | 1 L | P33300 |
| Pro-Q Diamond 磷蛋白凝胶染料 | 200 mL | P33301 |
| Pro-Q Diamond 磷蛋白凝胶染料 | 5 L | P33302 |
| No-Stain 蛋白标记试剂 | 10 次反应 | A44717 |
| No-Stain 蛋白标记试剂 | 40 次反应 | A44449 |
| | | |

参考又献

- 1. Ornstein L (1964) Disc electrophoresis. 1. Background and theory. *Ann N Y Acad Sci* 121:321–349.
- 2. Moos M Jr, Nguye NY, Liu TY (1988) Reproducible high yield sequencing of proteins electrophoretically separated and transferred to an inert support. *J Biol Chem* 263:6005–6008.
- 3. Kubo K (1995) Effect of incubation of solutions of proteins containing dodecyl sulfate on the cleavage of peptide bonds by boiling. *Anal Biochem* 225:351–353.

轻松获取技术和产品支持

蛋白电泳和免疫印迹学习中心

仅通过一次实验就获得发表级结果绝非易事。这个学习中心 旨在与科研人员分享技术资源,从网络讲座到实用建议与技 巧,帮助您深入了解蛋白电泳和免疫印迹实验。无论您是实 验新手,还是已有一定经验且希望进阶,都可通过这个学习 中心来优化自己的印迹结果与实验效率,加快成功的步伐。

即刻获取资源, 请浏览

thermofisher.com/westerneducation

Invitrogen™ BlotBuilder™ 实验方案选择工具

让我们来帮助您针对具体的蛋白特点和实验需求, 挑选最合适的研究工具。您仅需回答关于目标蛋白和实验体系的几个问题, 便可获取一整套推荐产品方案, 以及相应的蛋白质免疫印迹操作指南。

即刻定制方案, 请浏览

thermofisher.com/blotbuilder



赛默飞世尔科技

上 海

上海市浦东新区新金桥路27号3,6,7号楼邮编 201206 电话 021-68654588*2570

生命科学产品和服务业务 上海市长宁区仙霞路99号21-22楼 邮编 200051 电话 021-61453628 / 021-61453637

北京

北京市东城区北三环东路36号环球贸易中心C座7层/8层邮编 100000 电话 010-87946888

广州

广州国际生物岛寰宇三路36、38号合景星辉广场北塔204-206 单元 邮编 510000 电话 020-82401600

成 都

成都市临江西路1号锦江国际大厦1406 室邮编 610041 电话 028-65545388*5300

南京

南京市中央路201号南京国际广场南楼1103室 邮编 210000 电话 021-68654588*2901

沈阳

沈阳市沈河区惠工街10号卓越大厦3109 室邮编 110013 电话 024-31096388*3901

武 汉

武汉市东湖高新技术开发区高新大道生物园路 生物医药园C8栋5楼 邮编 430075 申话 027-59744988*5401

西 安

西安市高新区科技路38号林凯国际大厦 1006-08单元 邮编 710075 电话 029-84500588*3801

昆明

云南省昆明市五华区三市街6号柏联广场写字 楼908单元 邮编 650021 电话 0871-63118338*7001

欲了解更多信息,请扫描二维码关注我们的微信公众账号

赛默飞世尔科技在全国有共21个办事处。本资料中的信息,说明和技术指标如有变更,恕不另行通知。

更多详细信息, 请浏览 thermofisher.com/proteinelectrophoresis



赛默飞 官方微信



表默飞★ 生命科学小助手

免费服务电话: 800 820 8982/400 820 8982 信息咨询邮箱: cnbidmarketing@thermofisher.com

www.thermofisher.cn



仅用于研究目的。不可用于诊断目的。© 2016, 2021 Thermo Fisher Scientific Inc. 保留所有权利。所有商标均为 Thermo Fisher Scientific Inc. 及其子公司的资产,除非另有指明。Bio-Rad 和 TGX 是 Bio-Rad Laboratories, Inc.的商标。SERVA 是 SERVA Feinbiochemica GmbH 的商标。Triton 是 Union Carbide Corporation 的商标。Tween 是 Croda Americas, Inc.的商标。**COL013559 0421**