



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// www.real-tims.com.cn

E-mail: real-times@vip.163.com

10×酸性蛋白 Native PAGE[®] 转膜缓冲液

产品编号	产品名称	规格
AP5015	10×酸性蛋白 Native PAGE [®] 转膜缓冲液（粉末）	1 升

简介:

10×酸性蛋白 Native PAGE[®] 转膜缓冲液适用于酸性蛋白电泳后凝胶上非变性酸性蛋白的转膜。本转膜液配制便捷，稀释后无需调节 pH 值，pH 约为 9.2。缓冲液主要成分为 Tris，甘氨酸和微量 SDS。该缓冲液最终可配成 10 升即用型 1×缓冲液（要补加甲醇）。

保存条件:

粉末装常温保存，两年有效。

配制方法:

将 10×转膜缓冲液粉末全部溶解于 1 升超纯水中，彻底溶解，即配成 10×转膜缓冲液。根据下表配制成 1×即用型转膜缓冲液

	1×即用型转膜缓冲液	
	500 ml	1 L
10×转膜缓冲液	50 ml	100 ml
超纯水	400 ml	800 ml
无水甲醇	50 ml	100 ml
	不用调节 pH	

使用方法:

1. 酸性蛋白非变性电泳:

各种蛋白质分子由于所含的碱性氨基酸和酸性氨基酸的数目不同，因而有各自的等电点。凡碱性氨基酸含量较多的蛋白质称为碱性蛋白，等电点偏碱性， $pI > 7$ ，如组蛋白、精蛋白等。反之，凡酸性氨基酸含量较多的蛋白质，等电点就偏酸性， $pI < 7$ ，自然界中大多数蛋白都是酸性蛋白。分离碱性蛋白时候，要利用低 pH 凝胶系统，分离酸性蛋白时候，要利用高 pH 凝胶系统。酸性蛋白通常在非变性凝胶电泳中采用的 pH 是 8.8 的缓冲系统，蛋白会带负电荷，蛋白会向阳极移动；而碱性蛋白通常电泳是在微酸性环境下进行，蛋白带正电荷，这时候需要将阴极和阳极倒置才可以电泳。酸性蛋白电泳可参考使用非变性 PAGE 凝胶制备及电泳试剂盒（货号:RTD6130）。

2. 转膜:

① 转膜方法：酸性蛋白在非变性状态的转膜建议用湿转法。

② 三明治结构：由于酸性蛋白 $pI < 7$ 在碱性转膜缓冲液中带负电荷，转膜三明治结构与传统转膜相同，即根据“黑胶白膜”制作三明治，即膜置于转膜夹芯正极一侧，凝胶置于转膜夹芯负极一侧，这样凝胶上带负电荷的酸性蛋白才能转移到膜上。

酸性蛋白转膜三明治制作：

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

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

④ 转膜条件:

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

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

高于 70kD	300 mA	1.5 小时	需要
---------	--------	--------	----