



扫描二维码打开中科瑞泰官网
www.real-times.com.cn

Ver. 711175

糖蛋白染色试剂盒 Glycoprotein Stain Kit

产品编号及规格:

货号	规格
RTD6501	10次

贮存和运输:

按照标签温度贮存;
试剂盒常温运输;
有效期一年。

产品组成:

货号	名称	规格	贮存
RTD6501-01	氧化试剂	2.5 g	RT 避光
RTD6501-02	糖蛋白染色试剂	250 ml	4℃ 避光
RTD6501-03	还原试剂	1.25 g	RT 避光
RTD6501-04	阳性对照(辣根过氧化物酶)	1 mg	-20℃
RTD6501-05	阴性对照(大豆胰蛋白酶抑制剂)	1 mg	-20℃
PL080	5×MonoColor蛋白上样缓冲液(变性,还原)	1 ml	-20℃
	250ml棕色塑料瓶(空瓶)	2个	RT

产品简介:

本产品采用高碘酸-Schiff法(PAS),用于PAGE凝胶或蛋白免疫印迹硝酸纤维素膜(NC膜)上糖蛋白的检测。整个染色约2.5小时完成。染色后的糖蛋白为品红色条带,背景为浅粉色或者无色。该试剂盒检测的灵敏度一般可以达到 μg 级别,但实际灵敏度与靶蛋白糖基化程度相关。该产品不仅可以用于SDS-PAGE和2D电泳的凝胶检测,还可以用于NC膜的检测。

按照每次使用25 ml糖蛋白染色试剂计算,本产品可以染色8-10块mini-PAGE(8×10cm)胶或18-20张NC膜(8×8 cm)。

实验前准备:

1. 配制3%醋酸溶液:将15 ml自备的冰醋酸与485ml超纯水混匀,常温保存备用。
2. 配制50%甲醇溶液:将250 ml甲醇与250 ml超纯水混匀,常温保存备用。
3. 配制氧化试剂溶液:将本试剂盒提供的氧化试剂干粉全部转移到本试剂盒提供的250ml空塑料瓶中,然后加入250 ml的超纯水,充分混匀溶解后得到氧化试剂溶液,常温保存备用。
4. 配制还原试剂溶液:将本试剂盒提供的还原试剂干粉全部转移到本试剂盒提供的250ml空塑料瓶中,然后加入250 ml的超纯水,充分混匀溶解后得到还原试剂溶液,常温保存备用。
5. 配制1×SDS-PAGE上样缓冲液:取0.4 ml 5×MonoClolor蛋白上样缓冲液,加入1.6 ml超纯水, -20℃贮存备用。
6. 配制阳性对照(辣根过氧化物酶)溶液:取阳性对照小管快速离心30秒,将粉末收集到管底;向管中加入1 ml 1×SDS-PAGE上样缓冲液(准备5),所得辣根过氧化物酶溶液的浓度即为1mg/ml,适量分装成8-10管,留下一管当天使用,其余的放-20℃长期保存。对于8×10 cm的凝胶来说,每条泳道加5-10 μl 的阳性对照溶液即可,上样前95℃处理5分钟。
7. 配制阴性对照(大豆胰蛋白酶抑制剂)溶液:取阴性对照小管快速离心30秒,将粉末收集到管底;向装有1 mg大豆胰蛋白酶抑制剂干粉的管中加入1ml 1×SDS-PAGE上样缓冲液(准备5),所得大豆胰蛋白酶抑制剂溶液的浓度即为1 mg/ml,适量分装成8-10管,留下一管当天使用,其余的放-20℃长期保存。对于8×10 cm的凝胶来说,每条泳道加5-10 μl 的阴性对照溶液即可,上样前95℃处理5分钟。

8. 样品稀释:用5×MonoClolor蛋白上样缓冲液将样品浓度稀释为1 mg/ml,其中上样缓冲液终浓度为1×。对于8×10 cm的凝胶来说,每条泳道加5-10 μl 的样品即可,上样前95℃处理5分钟。

凝胶染色的操作步骤:

注意事项:

1. 以下步骤仅针对1 mm厚度大小8×10cm的凝胶,1.5 mm厚度凝胶或更大体积凝胶适当增加液体体积并延长操作时间。
2. 请在通风橱中进行以下操作。
 - 一. 固定:
取出电泳后的SDS-PAGE凝胶,加入50 ml 50%甲醇溶液,摇床慢摇30分钟,弃甲醇溶液。
 - 二. 漂洗:
50 ml超纯水洗涤凝胶两次,每次摇床慢摇10分钟,弃水。
 - 三. 氧化:
凝胶中加入25 ml氧化试剂,摇床慢摇15分钟,弃溶液。
 - 四. 漂洗:
50 ml超纯水洗涤凝胶3次,每次摇床慢摇5分钟,弃溶液。
 - 五. 染色:
凝胶中加入25 ml糖蛋白染色试剂,摇床慢摇15分钟,糖蛋白会在5-10分钟内显现品红色。若检测的糖蛋白含量较低,适当延长显色时间。弃染色溶液。
注:若糖蛋白染色试剂中有晶体析出,只需取上清液即可,不要加热溶解晶体。染色步骤会产生有刺激性气味气体,请在通风橱中操作。

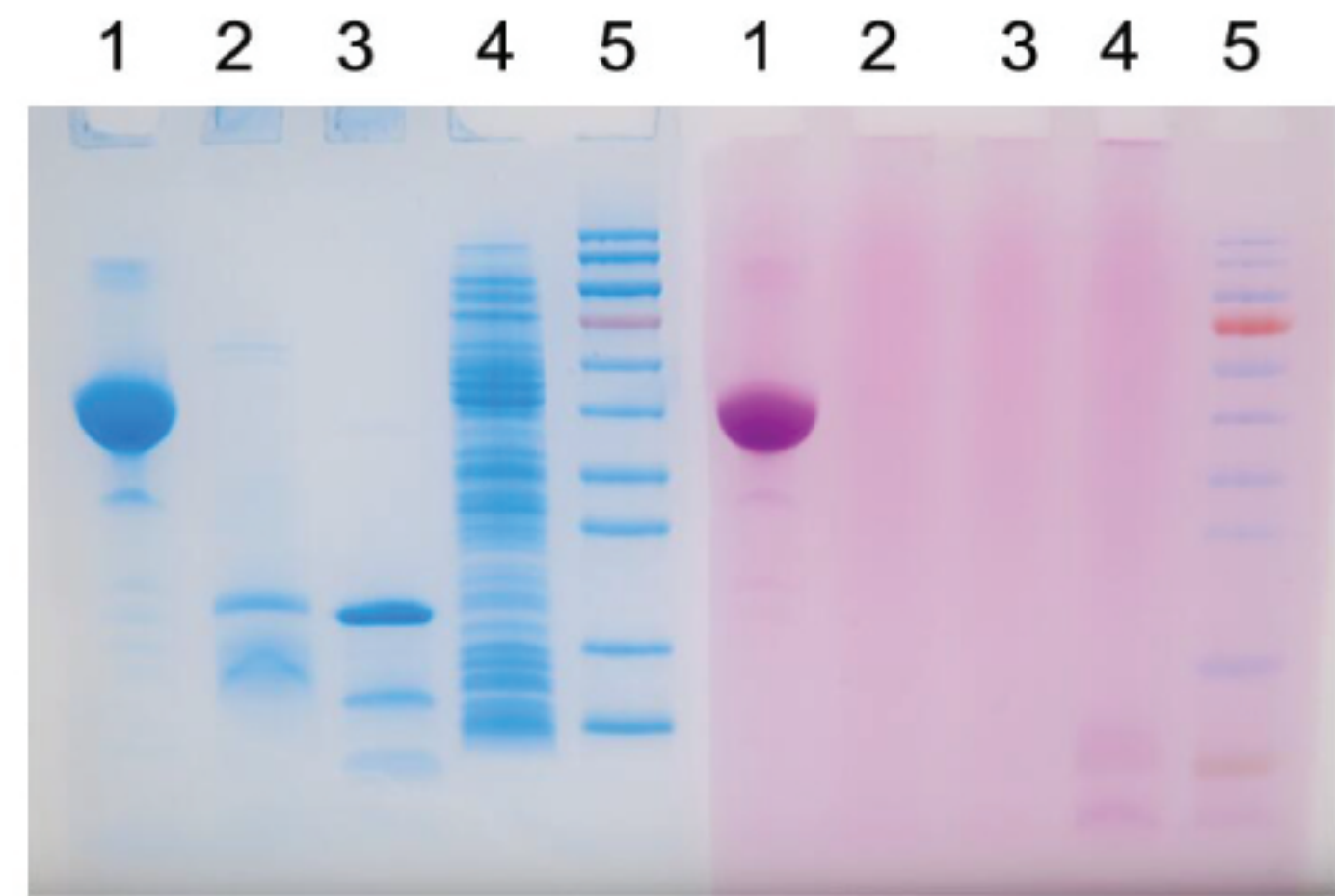
- 六. 还原：
凝胶中加入 25 ml 还原试剂，摇床慢摇15分钟，弃溶液。此时凝胶背景略带红色。
- 七. 漂洗：
加入50 ml 3%醋酸溶液，摇床慢摇洗涤胶块3次，每次10分钟，直至胶背景红色变浅，接近淡红色或无色，此时红色糖蛋白主带清晰可见。
- 八. 保存：
胶块保存在50 ml 3%醋酸溶液中。

NC膜染色操作步骤：

- 一. 预处理：
用20 ml 3%醋酸溶液洗涤膜两次，每次10分钟。
- 二. 氧化：
将膜转移到10 ml的氧化试剂中，轻轻振荡15分钟。
- 三. 漂洗：
用10 ml 3%醋酸溶液洗涤膜3次，每次轻轻振荡5分钟。
- 四. 染色：
将膜转移到10 ml糖蛋白染色试剂中，摇床慢摇15分钟，糖蛋白会在5-10分钟内显现品红色。若检测的糖蛋白含量较低，适当延长显色时间。弃染色溶液。
注：若糖蛋白染色试剂中有晶体析出，只需取上清液即可，不要加热溶解晶体。染色步骤会产生有刺激性气味气体，请在通风橱中操作。
- 五. 还原：
将膜转移到10 ml 还原试剂中，摇床慢摇15分钟，弃溶液。此时膜的背景略带红色。

- 六. 漂洗：
加入10ml 3%醋酸溶液摇床慢摇洗涤膜3次，每次10分钟，直至胶背景红色变浅，接近淡红色或无色，此时红色糖蛋白主带清晰可见。
注：检测后如果没有条带，可以用转膜后的PAGE 胶进行检测，因为糖蛋白(尤其是高度糖基化的蛋白)转膜效果比较差。
- 七. 保存：
膜可以保存在3%醋酸溶液中。

实验示例：



考马斯亮蓝染色 糖蛋白染色试剂盒染色

12% SDS-PAGE Gel 1×TGS 150V 50 min
lane 1 阳性对照-HRP 含有16%糖蛋白
lane2 lane3 阴性对照-大豆胰蛋白酶抑制剂 不含糖蛋白
lane 4 细菌DH5α裂解液
lane 5 三色预染宽分子量蛋白Marker (RTD6018)

相关产品

货号	产品名称	包装
RTD6117-0008	8%RealPAGE Precast PAGE Gel(通用型)	10 gels
RTD6117-0010	10% RealPAGE Precast PAGE Gel(通用型)	10 gels
RTD6117-0012	12% RealPAGE Precast PAGE Gel(通用型)	10 gels
RTD6117-0015	15% RealPAGE Precast PAGE Gel(通用型)	10 gels
RTD6117-0412	4-12% RealPAGE Precast PAGE Gel(通用型)	10 gels
RTD6117-0420	4-20% RealPAGE Precast PAGE Gel(通用型)	10 gels
RTD6117-0816	8-16% RealPAGE Precast PAGE Gel(通用型)	10 gels
PL111-03	5×非变性非还原蛋白上样缓冲液	10×1ml
PL080-03	5×MonoColor蛋白上样缓冲液(变性，还原)	10×1 ml
PL090-03	5×DualColor蛋白上样缓冲液 (变性，还原)	10×1ml
TG120	5×Tris-Glycine-SDS电泳缓冲液	500 ml
TG140P	1×Tris-Glycine-SDS电泳缓冲液 (粉末)	10×1L
RTD6202	FastBlue蛋白快速染色液	500 ml
RTD6103	低分子量蛋白Marker II (14.4-116KD)	20次
RTD6111	宽分子量蛋白Marker (10-200kD)	20次
RTD6108	三色预染宽分子量蛋白Marker (10-180KD)	50次
RTD6105	双色预染宽分子量蛋白Marker (10-170KD)	20次
RTD6106	彩虹预染宽分子量蛋白Marker (10-260KD)	20次
RTD6124	ECL发光Marker (15-95KD)	20次