



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

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

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

Phos-tag 磷酸化检测阳性对照

Ver.760774-1.0

货号	名称	规格
PT0120	Phos-tag 磷酸化检测阳性对照	20 次

● 产品组成:

组份	名称	浓度	规格
PT0120-01	RC1 蛋白（磷酸化）	1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	100 μl
PT0120-02	RC2（部分磷酸化）	1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	100 μl

● 产品介绍:

Phos-tag 磷酸化检测阳性对照是一种用于验证 Phos-tag SDS-PAGE 电泳体系及 Western Blot 磷酸化检测流程有效性的标准化蛋白对照。本产品由具有明确磷酸化状态差异的蛋白组分组成，可在 Phos-tag 凝胶中产生不同迁移速率的蛋白条带，用于确认 Phos-tag 凝胶对磷酸化蛋白的捕获和迁移分离能力。与普通 SDS-PAGE 相比，Phos-tag SDS-PAGE 能够根据蛋白结合磷酸基团的数量及状态产生迁移差异，使未磷酸化和磷酸化蛋白表现为不同迁移位置，从而实现蛋白磷酸化状态的可视化分析。

按照每次上样 5 μl 计算，该产品可以使用 20 次。

● 贮存、运输及效期:

-20°C 贮存；湿冰运输；有效期一年。

● 使用方法:

1. 取 RC1 蛋白和 RC2 蛋白，95 度加热 5 min，各取 3-5 μl 上样。

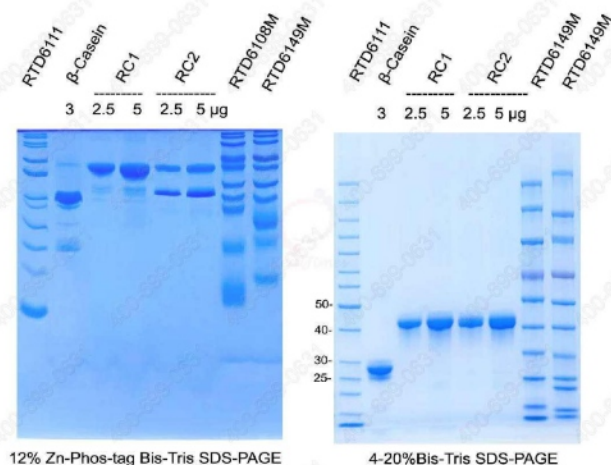
注：建议使用 12% Zn-Phos-tag Bis-Tris SDS-PAGE 或 8% Mn-Phos-tag Tris-Glycine SDS-PAGE 凝胶。

2. 电泳结束后，考马斯亮蓝染色观察结果。

注：如果凝胶需要转膜检测，可以将含有 RC1 和 RC2 蛋白的泳道切下单独进行考染，通过染色结果判定 Phos-tag 体系是否正常，剩余凝胶进行转膜以及后续抗体检测。

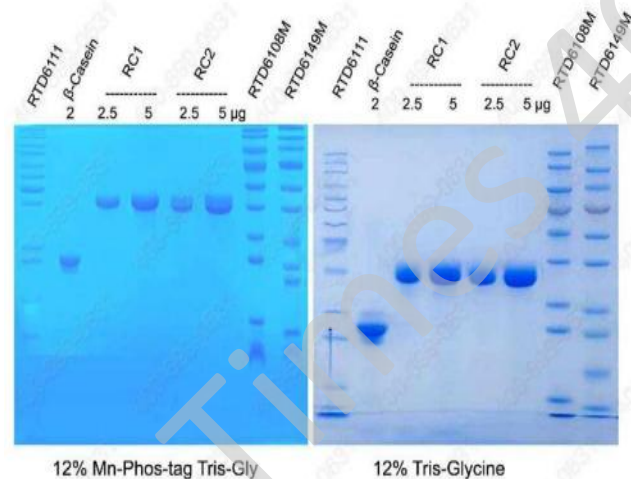
● 实验示例:

1. 12% Zn-Phos-tag SDS-PAGE 检测:



12% Zn-Phos-tag SDS-PAGE 检测 RC1/RC2 蛋白磷酸化效果
制备 12%Zn-Phos-tag SDS-PAGE 凝胶 (50 μ M Phos-tag, 100 μ M 氯化锌), 同时使用 4-20%Bis-Tris SDS-PAGE (RTD6118-0420-11) 作为对照; 两板同时电泳; 电泳条件: 1 $\times$ Tris-MOPS-SDS 电泳缓冲液 (TM1270P), 加抗氧化剂 (TA1510), 70V 10min 后调节电压到 140V, 至溴酚蓝前沿到达凝胶底部, 电泳时间共 55 min; FastBlue 蛋白染色液 (RTD6202) 染色; RC1 为天然磷酸化蛋白, RC2 为 RC1 经 λ Protein Phosphatase 部分脱磷酸化处理, 包含磷酸化和脱磷酸化蛋白两种形式, 在 Zn-Phos-tag SDS-PAGE 中, RC2 分离为两条迁移率不同的条带, 其中慢迁移条带对应磷酸化蛋白, 快迁移条带对应脱磷酸化蛋白 (左图); 而在常规 Bis-Tris SDS-PAGE 中, 磷酸化和脱磷酸化 OA 无法区分 (右图)。

2. 12% Mn-Phos-tag SDS-PAGE 检测:



12% Mn-Phos-tag SDS-PAGE 检测 RC1/RC2 蛋白磷酸化效果
制备 12%Mn-Phos-tag SDS-PAGE 凝胶 (50 μ M Phos-tag, 100 μ M 氯化锰), 同时使用 12% Tris-Glycine SDS-PAGE (RTD6118-12-15) 作为对照; 两板同时电泳; 电泳条件: 1 $\times$ Tris-甘氨酸-SDS 电泳缓冲液 (TG140P), 7 两板同时电泳 80V 25min 150V 终 26mA 合计 81min, 至溴酚蓝前沿到达凝胶底部; FastBlue 蛋白染色液 (RTD6202) 染色; RC1 为天然磷酸化蛋白, RC2 为 RC1 经 λ Protein Phosphatase 部分脱磷酸化处理, 包含磷酸化和脱磷酸化蛋白两种形式, 在 Mn-Phos-tag SDS-PAGE 中, RC2 分离为两条迁移率不同的条带, 其中慢迁移条带对应磷酸化蛋白, 快迁移条带对应脱磷酸化蛋白 (左图); 而在常规 Tris- SDS-PAGE 中, 磷酸化和脱磷酸化 OA 无法区分 (右图)。