

Amersham™ ECL™ Gel system

预制胶水平蛋白电泳系统

Amersham™ ECL™ Gel system 预制胶水平蛋白电泳系统由 Amersham ECL 预制胶及 Amersham ECL 电泳槽组成。预制胶结合独特设计的水平电泳槽，方便用于高质量的蛋白电泳分离。

预制胶可与电泳缓冲液配合使用，保质期长达12个月。在保质期内，预制胶性能不会随时间的增长而改变。Amersham ECL 预制胶稳定性好，可用于分离复杂蛋白样品，实现高质量、可重复的电泳结果。

- 无需灌胶，省时方便
- 预制胶保质期长达12个月
- 实验更安全，避免了灌胶时接触丙烯酰胺
- 实验结果更稳定，批次稳定的预制胶为高质量、可重复的电泳保驾护航

Amersham ECL 电泳槽(图1)的独特水平设计，使电泳操作更加方便：

- 上样更轻松
- 仅需190ml电泳缓冲液
- 特殊设计有效避免缓冲液漏液
- 配合预制胶，完成8x7.5cm电泳分离



图1: Amersham™ ECL™ 预制胶电泳系统包括：预制胶、电泳槽、预混合电泳缓冲液。

丰富的 Amersham ECL 预制胶种类：

- 根据上样孔数量，分为15孔型、10孔型，和2孔型三种
- 根据预制胶浓度不同，分为10%(均一胶)、12%(均一胶)、4-12%(梯度胶)、8-16%(梯度胶)、4-20%(梯度胶)
- 可与10× SDS-PAGE电泳缓冲液以及预先裁切好的 Amersham Hybond™-P(PVDF)膜配合使用

预制胶不含SDS(十二烷基硫酸钠)，灵活选择电泳缓冲液和上样缓冲液，即可完成native PAGE和SDS PAGE。



方便的上样过程及胶处理过程

Amersham ECL预制胶系统使PAGE电泳和DNA琼脂糖电泳过程一样简单可行(图2)。和垂直电泳系统相比,水平模式的蛋白电泳系统使整个预制胶清晰可见,电泳过程一目了然。因此,电泳上样更轻松,孔内样品清晰可见。



图2 A: Amersham ECL预制胶被牢固的封在两层塑料板中。整个塑料板直接放置在预制胶电泳槽中,揭开电泳梳即可暴露上样孔。



图2 B: 水平电泳模式的设计使得上样过程更符合人体工程学需求,整个电泳过程一览无余。



图2 C: 整套仪器无需额外配件,电泳梳可用来打开塑料板,取出凝胶。



图2 D: 塑料板上半部分的边缘可用来去除多余预制胶,简化电泳后预制胶处理过程。

预制胶特点：更长的保质期

Amersham ECL预制胶保质期长达12个月(自预制胶制备好后起算)。在保质期内使用该预制胶检测结果的稳定性并不受贮存时间长短的影响(图3)。

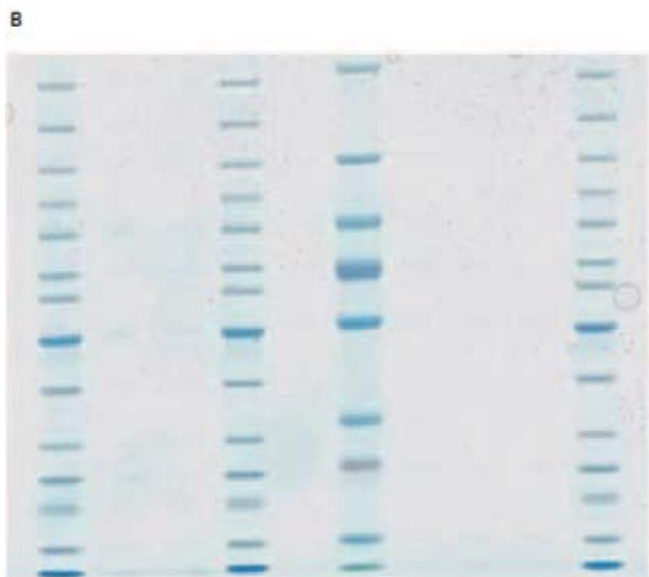
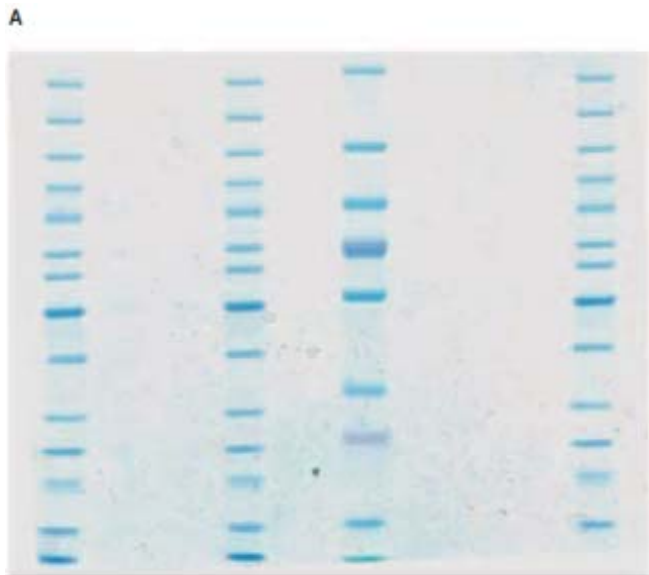


图3：同批次的2个浓度为4-12%的梯度胶Amersham ECL预制胶在两种不同情况下电泳：A：预制胶生产后立即进行电泳；B：预制胶贮存12月后进行电泳。

预制胶特点：分辨率和灵敏度

PAGE电泳后通过蛋白染色实现蛋白分子可视化。最常用的染料是考马斯亮蓝，使用荧光染料(如Deep Purple全蛋白染料)的灵敏度更高。

下图所示，裂解HeLa细胞并纯化转铁蛋白后进行SDS-PAGE电泳，Amersham ECL预制胶分别用Deep Purple全蛋白染料和考马斯亮蓝染色预染(图4)，在两个组中，Amersham ECL预制胶均可以较好的分辨蛋白样品。表明：Amersham ECL预制胶是适合于免疫印记和蛋白纯化分析的良好方法。

- 预制胶类型：** Amersham ECL预制胶；浓度12%；10孔型；
样品： 2倍稀释的HeLa细胞裂解液(Deep purple预染剂 500ng, 考马斯亮蓝1ug.)；转铁蛋白(Deep purple 500ng, 考马斯亮蓝1ug)；
检测： A:Deep purple B: 考马斯亮蓝
成像系统： A: Typhoon FLA9000 B: ImageScanner III
分析软件： ImageQuant TL7.0

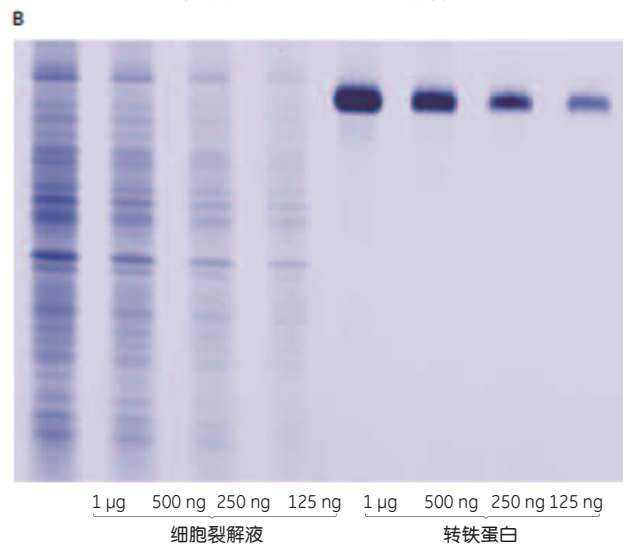
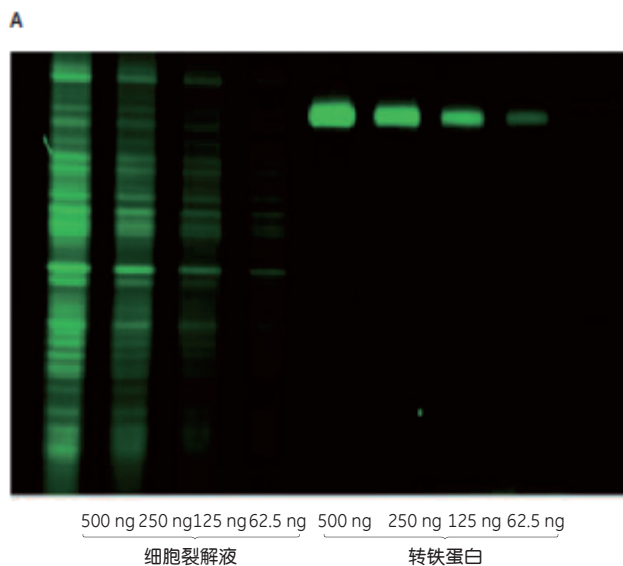


图4：SDS-PAGE后：Amersham ECL预制胶上的复合和纯化样品，A：Deep purple染色 B：考马斯亮蓝染色。

选择合适的预制胶

Amersham ECL预制胶不含SDS，可以通过电泳缓冲液和上样缓冲液的组成不同实现更灵活更多样的电泳。

PAGE电泳时，大分子量蛋白的分辨需要较低浓度的聚丙烯酰胺，而小分子量蛋白的分辨需要较高浓度的聚丙烯酰胺，同时分辨较大分子量范围内的多种蛋白的最好方法是选择梯度型预制胶。Amersham ECL预制胶提供不同浓度的梯度胶(图5)，研究者可以根据预期蛋白的分子量大小进行选择。

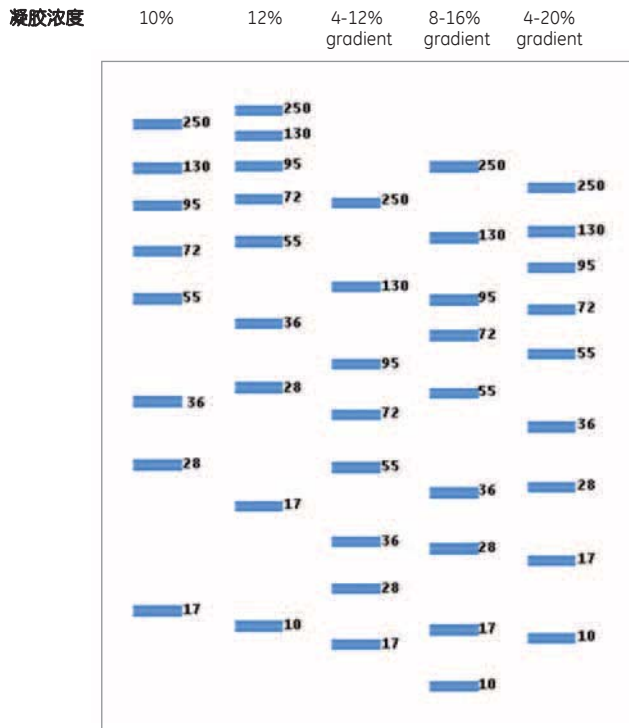


图5：不同浓度预制胶的蛋白迁移模式。如图所示，选择不同浓度的预制胶，特定分子量的蛋白在Amersham ECL预制胶上迁移位置不同。Amersham ECL电泳的推荐电泳时间为1h。

人血清IgG的纯度测定

通过SDS-PAGE检测不同阶段人来源IgG纯化过程不同阶段的IgG纯度(经AKTA pilot纯化)图6。PAGE电泳后，预制胶用Deep Purple总蛋白染料染色，结果表明Amersham ECL预制胶展现出的高度分辨率和灵敏度使该预制胶成为AKTA系统进行蛋白纯化分析的良好选择。

预制胶类型： Amersham ECL预制胶，浓度4-20%，15孔型
样品： IgG 纯化过程中的血清成分，总蛋白含量500ng
检测： Deep purple总蛋白染料
成像系统： Typhoon FLA9000
分析软件： ImageQuant TL 7.0

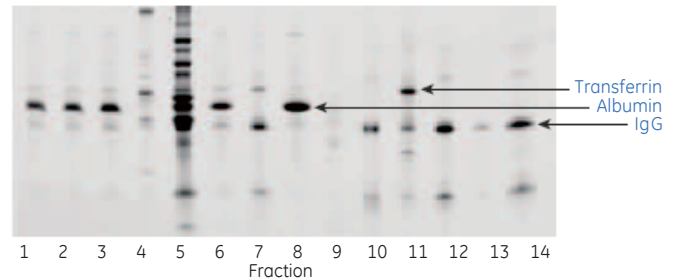


图6：检测IgG纯化过程不同阶段的血清成分，用Deep purple全总蛋白染料预染，从1道(最初的人血清)到14道(纯化的IgG)表示IgG富集和纯化的不同阶段；7和11为血清中的白蛋白和转铁蛋白，是从IgG中分离出的成分。

检测柱上酶切效率

通过电泳，比较两个不同蛋白酶的活性和酶切效率。绿色荧光蛋白标记的GST(GST-GFP)用来作为检测蛋白。GST-GFP和GFT-SpinTrap柱结合洗脱后，加入蛋白酶A或蛋白酶B。对蛋白酶A或B来说，洗脱孔的无标签GFP的总产率均达到60%左右，且两种蛋白酶用Amersham ECL预制胶SDS-PAGE电泳后呈现的蛋白迁移模式也相似。

预制胶类型： Amersham ECL预制胶，浓度8-16%，10孔型
样品： GST-GFP-His，每孔1-2ug
检测： Deep purple总蛋白染料
成像系统： Typhoon FLA9000
分析软件： ImageQuant TL 7.0

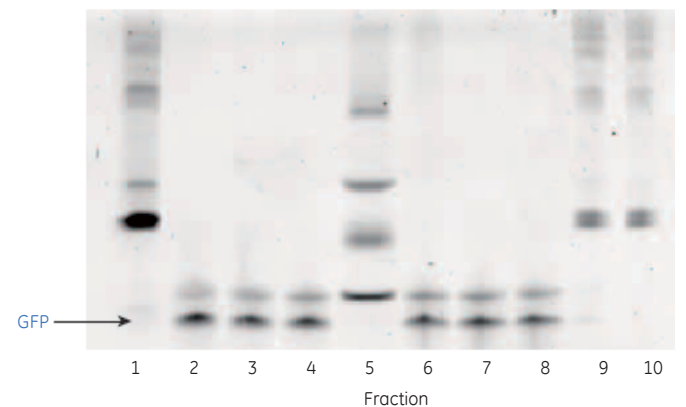


图7：GST-GFP-His 柱上切割后，洗脱产物进行SDS-PAGE电泳。1泳道：起始样品(GST-GFP-His).2-4泳道：蛋白酶A切割后的洗脱物；5泳道：LWM-SDS蛋白分子量标准；6-8泳道：蛋白酶B切割后的洗脱物；9泳道：使用蛋白酶A酶切时，GFP-Spintrap柱流穿液；10泳道：使用蛋白酶B酶切时，GFP-Spintrap柱流穿液；箭头标记GFP的位置。

免疫印记中Amersham ECL预制胶的应用

SDS-PAGE是western blot(免疫印记)最常用的蛋白分离方法。Amersham ECL预制胶进行蛋白电转移效率较高, 95%的蛋白都可以转移到膜上(图8)。Amersham ECL预制胶使Western blot 的灵敏度增高, 推荐与Amersham ECLPrime化学发光检测试剂和ImageQuant LAS 4000系列超灵敏化学发光成像仪配合使用, 以达到最佳western blot效果。

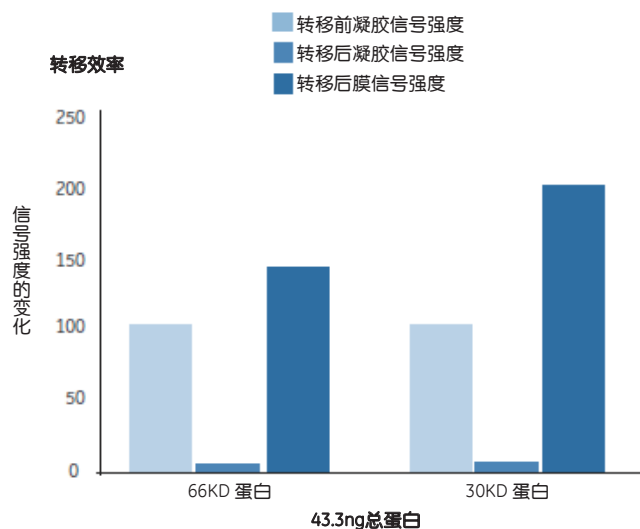


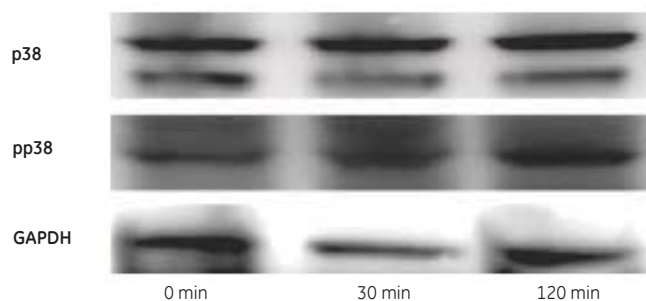
图8: 转膜前后PVDF膜和Amersham ECL 预制胶上LMW-SDS 试剂盒中2个标准蛋白的定量分析, 结果可见: 蛋白可以有效地转移到膜上, 预制胶上只有极少的残留蛋白。

Western Blot: 翻译后修饰的定量检测

P38是和细胞分化及凋亡有关的胞外信号调节激酶, 其活性和磷酸化水平有关。我们用转化生长因子TGF- β 刺激人胚肾293T细胞, 裂解细胞后, 用Amersham ECL预制胶进行PAGE电泳, 在不同时间点, WB(免疫印记)检测P38和磷酸化P38(PP38)表达水平(图9)。PP38的检测以管家蛋白GAPDH作为定量内参。

预制胶类型: Amersham ECL预制胶, 浓度 4-20%, 10孔型
样品: TGF- β 刺激0, 30, 120分钟后, 人胚肾293细胞的裂解液。每个样品加2个孔, (每个孔上样量相同)
电转膜: Hybond-P膜
封闭液: PBS稀释的5%BSA
一抗: 小鼠抗人P38单克隆抗体 1:5000
小鼠抗人PP38多克隆抗体 1:5000
小鼠抗人GAPDH多克隆抗体 1:2500
二抗: HRP标记的抗小鼠单克隆IgG 1:50000
检测试剂: Amersham ECL Prime
成像系统: ImageQuant LAS 4000 mini
分析系统: ImageQuant TL 7.0

TGF- β 刺激后P38的磷酸化水平



PP38的定量

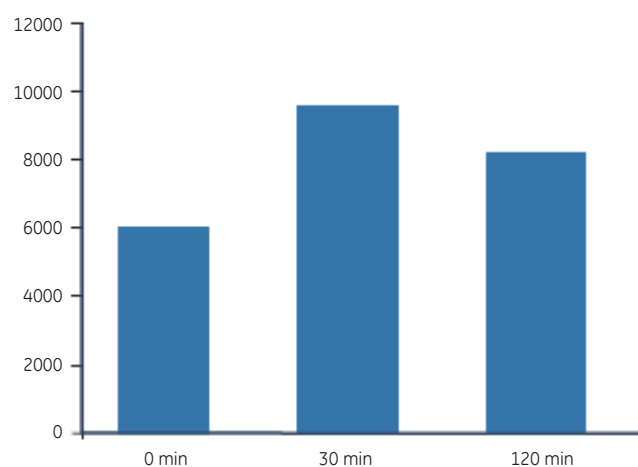


图9: 定量Western Blot检测TGF- β 刺激后293T细胞的P38和PP38的表达。

TGF- β 刺激细胞30分钟后, P38发生磷酸化。刺激120分钟后, PP38磷酸化水平最高。GAPDH标准化后, 情况略有不同, PP38磷酸化水平最高峰出现在TGF- β 刺激30分钟后。当TGF- β 刺激一直存在时, P38保持磷酸化状态。WB结果显示: Amersham ECL预制胶为蛋白转移和分析提供了最佳条件, 可精确检测蛋白表达水平的微小变化, 还可用于翻译后修饰的定量检测。

产品订购信息

Product	2 wells (10 gel pack) Code no.	10 wells (10 or 2 gel pack) Code no.	15 wells (10 gel pack) Code no.
Amersham ECL Gel 10%	28-9901-60	28-9898-04 28-9898-08 ¹	28-9901-55
Amersham ECL Gel 12%	28-9901-61	28-9898-05 28-9898-09 ¹	28-9901-56
Amersham ECL Gel 4-12%	28-9901-62	28-9898-06 28-9901-51 ¹	28-9901-57
Amersham ECL Gel 8-16%	28-9901-63	28-9898-07 28-9901-52 ¹	28-9901-58
Amersham ECL Gel 4-20%	28-9901-64	28-9901-54 28-9901-53 ¹	28-9901-59

¹ 2 gel pack

Product	Code no.
Amersham ECL Gel Box	28-9906-08
Amersham ECL Gel Running buffer, 250 ml	28-9902-52

Related products	Code no.
Hybond-P (8 × 7.5 cm), 10 units	28-9909-83
Hybond-LFP (8 × 7.5 cm), 10 units	28-9909-84
Hybond ECL (8 × 7.5 cm), 10 units	RPN7.58D
Protran [®] BA83, 0.2 µm Blotting sandwich (8 × 7.5 cm), 10 units	10-4853-85
Protran BA85, 0.45 µm Blotting sandwich (8 × 7.5 cm), 10 units	10-4853-92
Amersham ECL Prime Western Blotting Detection Reagent, for 1000 cm ² membrane	RPN2232
EPS 301 Power Supply	18-1130-01
Full-Range Rainbow Molecular Weight Markers, 250 µl	RPN800E
Bromophenol Blue, 10 g	17-1329-01
Deep Purple Total Protein Stain, 5 ml	RPN6305

技术指标

Amersham ECL预制胶

保质期	生产日期后12个月
	冷藏保存
预制胶直径	80 × 75 × 1.4 mm
上样孔规格	15孔型(20ul); 10孔型(35ul); 2孔型(100ul)
浓缩胶	4%
预制胶缓冲液	Tris-HCL
电泳缓冲液	检测天然蛋白: 25nM Tris, 192nm 甘氨酸, PH8.3 检测变性蛋白: 25nM Tris, 192nm 甘氨酸, 0.1%SDS, PH8.3
上样缓冲液	Tris-HCL±SDS 或其他上样缓冲液

Amersham ECL电泳槽

直径	167×148×43.5 mm (W × H × D)
最大电压	200V
最大功率	20W
推荐电源型号	EPS 301
电泳温度	4至40°C 室温贮存
电泳缓冲液用量	每块胶190ml
电泳时间	1h

通用电气(中国)医疗集团

网址: www.gelifesciences.com.cn

电邮: lifesciences@ge.com

咨询热线: 800-810-9118

400-810-9118

订购与分销商联系



imagination at work