

AAL-107 Phos-tag Acrylamide 丙烯酸酰胺试剂

货号: BN28162

1. 产品简介:

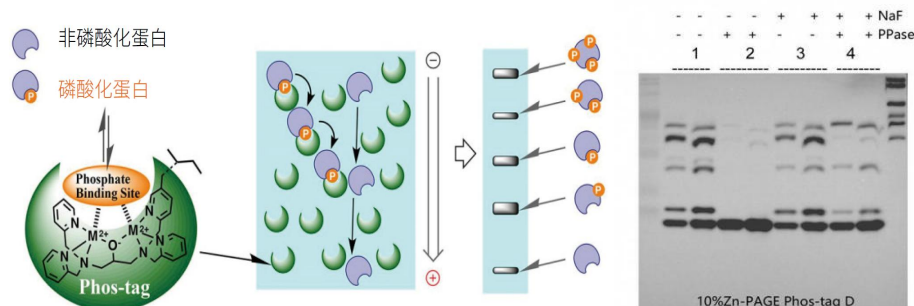
Phos-tag 是一种可特异性捕获磷酸化 Ser、Thr、Tyr 等物质的功能分子, 以 Phos-tag 丙烯酸酰胺 (Phos-tag Acrylamide) 为首开发的多种 Phos-tag 产品被应用于世界范围内的基础研究, 并且在 GPCR 通路及 Wnt 通路的信号转导分析方面也取得了优秀成果。在制备 SDS-PAGE 预制胶过程中加入 Phos-tag Acrylamide, 即可根据磷酸化水平和磷酸化位点分离磷酸化蛋白与非磷酸化蛋白。AAL-107 是丙烯酸酰胺试剂主要用于实验室电泳实验中分离磷酸化蛋白和非磷酸化蛋白。核心用途是在 SDS-PAGE 电泳中分离磷酸化蛋白与非磷酸化蛋白, 无需使用放射性同位素。

适用场景:

分析蛋白磷酸化水平变化。区分同一蛋白不同磷酸化位点的异构体。配合免疫印迹或质谱实验使用。

原理:

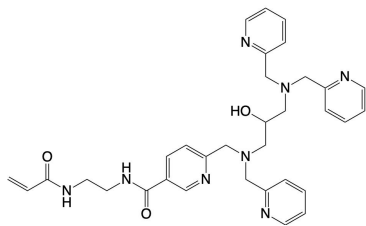
磷酸化蛋白的磷酸基团与试剂中的二价金属离子 (锌离子或锰离子) 结合。结合后蛋白迁移速度变慢, 在电泳胶上形成不同位置的条带。磷酸化水平越高, 条带位置越靠上。1. 电泳中的磷酸化蛋白捕获 2 个二价金属离子。2. 磷酸化水平越高电泳速度越慢。3. 根据磷酸化水平进行分离。(即使磷酸化位点的数目相同, 但只要位置不同就能分离)



特点

- 可检测市售抗磷酸化抗体无法检测的磷酸化蛋白。
- 可检测磷酸化水平及磷酸化位点。可同时检测磷酸化与非磷酸化。
- 只需在常规 SDS-PAGE 胶中添加该试剂和金属离子即可。
- 操作流程与普通电泳类似, 上手容易。
- 实验后可继续进行常规免疫印迹或质谱分析。
- 不含放射性元素, 安全性高。
- 可区分同一等电点位置上不同位点的磷酸化修饰。

产品基本信息: CAS 号: 871839-54-2。分子式: $C_{33}H_{38}N_8O_3$, 分子量 594.71。



试剂组份:

Cat No	Product Name	Size	Price	Storage
BN28162	Phos-tag Acrylamide 丙烯酰胺试剂	2mg/2100 元; 10mg/5200 元		4°C Sealed&desiccated&protect from light 3 year
CAS	871839-54-2	MW: C33H38N8O3, 分子量 594.71。		
外观 (Appearance)		固体粉末		

操作步骤

1. 试剂配制： 10mg 规格的 AAL-107 溶于 0.1mL 甲醇，然后加入 3.3mL 蒸馏水，用小勺搅拌至完全溶解（必要时超声波促溶！），配制成 5.0mmol/L 的 Phos-tag AAL 工作液。溶解后的母液 4℃可稳定保存 3 个月，搭配 10mM $MnCl_2$ 溶液备用，所有试剂现配现用或 4℃避光短期保存。

2.凝胶制备：在常规 10%SDS-PAGE 胶体系中，加入终浓度 50~100 μ M 的 AAL-107 和对应摩尔比的 $MnCl_2$ ，无需特殊设备即可完成制胶，混匀后灌胶，避免产生气泡。

3. 上样电泳：电泳过程中，磷酸化蛋白的磷酸基团会与试剂中的二价金属离子结合，迁移速度减慢，从而和非磷酸化蛋白实现分离。蛋白样品按常规方法处理后上样，电泳电压设置为恒压 120V，电泳全程维持 4℃低温环境，避免磷酸化蛋白去磷酸化。

4.后续转膜：电泳结束后，凝胶需提前在含 EDTA 的转膜缓冲液中浸泡 10 分钟，螯合游离金属离子，再进行常规 Western Blot 转膜操作。

AAL-107 的 Phos-tag SDS-PAGE 关键试剂配比速查表, 适配 10mL 体系的分离胶制备,

可直接对照操作：

	6%胶	8%胶	10%胶	12%胶
试剂组分	50μM AAL-107	50μM AAL-107	50μM AAL-107	50μM AAL-107
30%丙烯酰胺溶液 (mL)	2	2.67	3.33	4

1.5M Tris-HCl (pH8.8, mL)	2.5	2.5	2.5	2.5
5mM AAL-107 母液 (μL)	100	100	100	100
10mM MnCl ₂ 溶液 (μL)	100	100	100	100
10% SDS (μL)	100	100	100	100
超纯水 (mL)	5.1	4.43	3.77	3.1
10%过硫酸铵 (μL)	50	50	50	50
TEMED (μL)	7.5	7.5	7.5	7.5

注：若需提升磷酸化蛋白分离度，可将 AAL-107 终浓度调整至 100μM，对应母液添加量翻倍即可，其余组分保持不变。

注意事项：

- 禁止使用 Mn(NO₃)₂ 等其他锰盐替代实验指定的 MnCl₂，否则会大幅降低 Phos-tag 对磷酸化蛋白的捕获效率。Phos-tag™SDS-PAGE无法从marker推断分子量。marker只能用作转膜效率的基准。使用市售预染marker也会导致条带弯曲。建议使用重组或去磷酸化蛋白作为marker。
- 该试剂无放射性，分离后的凝胶可直接用于后续 Western Blot、质谱分析等实验
- 电泳温度过高会导致蛋白去磷酸化，需全程在低温环境下完成电泳。
- 若条带弥散，可适当降低 AAL-107 的使用浓度，调整至 50μM 即可改善分离效果
- 产品仅限于专业人员用于生命科学研究，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放普通住宅。
- 产品必须由合格专业技术人员操作同时佩戴口罩/手套/实验服并遵守生物实验室安全操作规程！