



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// [www.real-tims.com.cn](http://www.real-tims.com.cn)

E-mail: [real-times@vip.163.com](mailto:real-times@vip.163.com)

## Anti-GAPDH 抗体（兔多抗）

Anti-GAPDH Antibody (Polyclonal Antibody from Rabbit)

产品编号	产品名称	规格
RGA1040	Anti-GAPDH抗体（兔多抗）	20 $\mu$ l

### ● 产品简介

甘油醛-3-磷酸脱氢酶（Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, GAPDH）是糖酵解（glycolysis）过程中的关键酶，分子量为37 kDa左右。它催化甘油醛-3-磷酸的氧化磷酸化反应。GAPDH 作为管家基因在同种细胞或者组织中一般是恒定、高水平表达的，常用作Western Blot实验的内参照。

来源	用途及稀释比例	抗体类型	GAPDH分子量
Rabbit	WB 1:2000-5000 IHC 1:200-1000 IF 1:200-1000	多克隆抗体	36-38 kD

注：WB, Western blot; IP, Immunoprecipitation; IF, Immunofluorescence

本抗体如果用于常规的Western检测，至少可以检测20次。

### ● 贮存形式：

稳定溶液，1 mg/ml 抗体溶于PBS，50%甘油，pH7.2。

### ● 保存及运输条件：

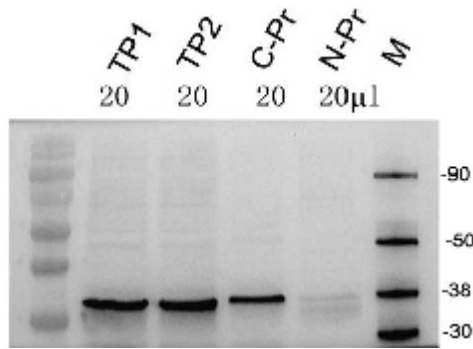
-20℃保存，一年有效；避免反复冻融；湿冰运输。

### ● 使用说明：

1. Western Blot杂交(ECL显色)：1:2000-5000稀释，常温孵育1-2 h或4℃过夜。

2. 免疫荧光（IF）和免疫组化（IHC）：1:200-1000稀释。

### ● 实验示例：



### Jurkat总蛋白，细胞浆蛋白，细胞核蛋白GAPDH检测

**总蛋白提取：**  $4 \times 10^6$  Jurkat细胞，2000 g 离心收集，去上清，沉淀中加入200  $\mu$ l RIPA（加2  $\mu$ l 100 mM PMSF），冰上裂解5分钟，4 $^{\circ}$ C 16000 g 15 分钟，上清即为总蛋白（TP）。

**细胞浆蛋白：**  $4 \times 10^6$  Jurkat细胞，2000 g 离心收集，加入400  $\mu$ l细胞浆蛋白抽提试剂A（加4  $\mu$ l 100mM PMSF，加0.4  $\mu$ l 1 M DTT），悬浮沉淀，冰浴15分钟；加入20  $\mu$ l细胞浆蛋白抽提试剂B，混匀，冰上孵育1分钟，震荡5秒，4 $^{\circ}$ C 16000g 10分钟，小心收集上清即为细胞浆蛋白（C-Pr），不要触及沉淀。

**细胞核蛋白提取：** 沉淀用200  $\mu$ l 1 $\times$ PBS漂洗一次，4 $^{\circ}$ C 16000 g 2分钟；沉淀中加入200  $\mu$ l 细胞核蛋白抽提试剂（加2  $\mu$ l 100mM PMSF，加0.2  $\mu$ l 1 M DTT），重悬沉淀，剧烈震荡15秒，冰浴40分钟，每间隔10分钟剧烈震荡15秒；4 $^{\circ}$ C 16000 g 5分钟，上清即为细胞核蛋白（N-Pr）。

**电泳：** RTD6132-15% 3.3C 200V 33-12 mA 55 min

**转膜：** NC膜，1 $\times$ RealBlot快速转膜液湿转，稳流400 mA，电压变化64-57 V，转膜时间35 min

**封闭：** 无蛋白快速封闭液RT 20 min

**一抗孵育：** GAPDH 羊抗兔多抗，一抗稀释液稀释1：2000

**二抗孵育：** 羊抗兔IgG-HRP，二抗稀释液稀释1：5000

**检测：** ECL发光检测