



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

Anti-GAPDH 抗体（兔多抗）

Anti-GAPDH Antibody (Polyclonal Antibody from Rabbit)

产品编号	产品名称	规格
RGA1240	Anti-GAPDH抗体（兔多抗）	20 μ 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; IHC, Immunohistochemistry; IF, Immunofluorescence

本抗体如果用于常规的Western检测，稀释5000倍，使用5 ml抗体，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：

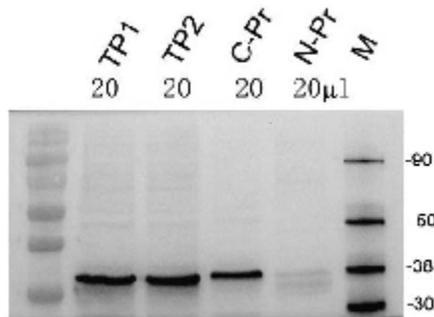
-20℃保存，一年有效；避免反复冻融；湿冰运输。

● 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: 4×10⁶ Jurkat细胞, 2000 g 离心收集, 去上清, 沉淀中加入200 μl RIPA (加2 μl 100 mM PMSF), 冰上裂解5分钟, 4℃ 16000 g 15 分钟, 上清即为总蛋白 (TP)。

细胞浆蛋白: 4×10⁶ Jurkat细胞, 2000 g 离心收集, 加入400 μl细胞浆蛋白抽提试剂A (加4 μl 100mM PMSF, 加0.4 μl 1 M DTT), 悬浮沉淀, 冰浴15分钟; 加入20 μl细胞浆蛋白抽提试剂B, 混匀, 冰上孵育1分钟, 震荡5秒, 4℃ 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 μl 1×PBS漂洗一次, 4℃ 16000 g 2分钟; 沉淀中加入200 μl 细胞核蛋白抽提试剂 (加2 μl 100mM PMSF, 加0.2 μl 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℃ 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×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