

## Precast Gel, Blue Native PAGE, 4-13%, 10 wells, 1.5mm

### 蛋白预制胶 Blue Native PAGE, 4-13%, 10 孔, 1.5mm

产品编号	产品名称	规格
BL1437A	蛋白预制胶Blue Native PAGE, 4-13%, 10孔, 1.5mm	10块

#### 产品简介:

蛋白预制胶 Blue Native PAGE 是一种从生物样品（质膜，胞浆等）中分离蛋白质复合物的电泳技术。能分离 66kDa-669kDa 范围内的蛋白质以及蛋白质复合物。

蛋白预制胶 Blue Native PAGE 以考马斯亮蓝 G-250 代替 SDS 使蛋白质复合物带负电荷，根据各个不同复合物分子量不同从而在胶中得到分离。这些复合物在胶中以蓝色条带形式呈现。样品制备过程中用一些温和的去污剂如 dodecylmaltoside(DM), Triton X-100 和毛地黄皂苷(digitonin)等溶解，从而使复合物以近似天然的状态分离。

实验中若想进一步分析复合物各个亚基的成分，通常采用 Blue Native PAGE 结合 SDS-PAGE 的方式。

#### 产品特点:

安全便捷—无需配制，即开即用，去掉梳子即可上样

玻璃胶板—有效减少蛋白非特异性吸附，使蛋白条带更为尖锐，清晰

超宽分辨率—有效分离 66kDa-669kDa 范围内的蛋白质以及蛋白质复合物

操作便捷—只需用刀片在玻璃胶板一侧轻轻划一下即可

兼容性广—适用 Bio-Rad Mini-PROTEAN, Hoefer Mighty Small, 六一, 天能和君意东方等品牌 mini 电泳槽

#### 基本信息:

胶板尺寸(宽×高×厚)	98×84×4.1mm	凝胶厚度	1.5mm
凝胶尺寸(宽×高×厚)	81×74×1.5mm	孔数	10 孔
浓缩胶（浓度，高度）	4%，1.5cm	最大上样量	60μL
分离胶（浓度）	4-13%	电泳缓冲体系	Tricine-Imidazole

#### 使用方法:

##### 一、预制胶、电泳液的准备

1、将蛋白预制胶 Blue Native PAGE 从包装袋中取出，将预制胶固定在电泳槽中，平稳、缓慢地拔出梳子。

2、请按下表配制电泳缓冲液。



组份	阴极电泳缓冲液 I	阴极电泳缓冲液 II	阳极电泳缓冲液
Tricine (mM)	50	50	-
Imidazole (mM)	7.5	7.5	25
Coomassie Blue G-250 (%)	0.02	0.002	-

**注意：**阴极电泳缓冲液 I 和阴极电泳缓冲液 II 呈中性，无需调节 pH 值；阳极电泳缓冲液需用 HCl 调节 pH 至 7.0。阴极电泳缓冲液 I 中的高浓度 Coomassie Blue G-250 可能会聚集，建议室温保存，并在使用前搅拌均匀。

3、内槽加满阴极电泳缓冲液 I，外槽加入阳极电泳缓冲液没过电泳槽底部的阳极即可。

**注意：**建议用 1 毫升移液枪吸取阴极电泳缓冲液 I 轻轻吹打加样孔，将加样孔冲洗干净，去除气泡和残留的缓冲液，这样电泳的效果更佳。

## 二、电泳

1、将处理好的样品加在上样孔中。最佳上样量须通过实验来确定，样品过量较易导致条带拖尾和信号过强。

2、插好电源，以恒压 100V 开始电泳，待样品跑过浓缩胶后，电压改为 250V，之后可以慢慢增大，并控制电流在 50mA 以内，直到溴酚蓝条带电泳至凝胶近底部或实验预定的位置。

3、待样品跑到凝胶的 1/3 处更换阴极电泳液，将阴极电泳缓冲液 I 更换为阴极电泳缓冲液 II，这样可以降低胶的背景。

4、电泳结束后，剥胶，对凝胶进行固定、染色、转膜，该过程和普通的 SDS-PAGE 相同。如果无需分析复合物各个亚基的组分，可以直接切割感兴趣的目的条带，酶解后进行质谱鉴定。若需分析复合物各个亚基的组成，可进行二向 SDS-PAGE。

## 三、二向 SDS-PAGE 操作过程

1、制胶：根据实验需求选择合适浓度的 SDS-PAGE。

2、平衡：将凝胶根据条带的位置切成成长条，置于含有 1%SDS，1%巯基乙醇溶液中平衡 2h，水洗 20min。

3、转移：先煮琼脂糖（0.05g 琼脂糖，10mL 电泳缓冲液，30 $\mu$ L 溴酚蓝），然后将平衡好的胶条摆在二向 SDS 胶的浓缩胶胶面上，用压胶片把胶条压紧，使二者紧密结合，并保证两个胶面之间没有气泡，再向胶面上封一层琼脂糖。

4、跑胶：等琼脂糖凝固后，将玻璃板摆到电泳槽上，倒入电泳缓冲液，以 25mA 恒流开始电泳。待样品跑过浓缩胶后，将电流改为 45mA 直到电泳结束。

5、银染

(1) 固定液（100mL 乙醇，25mL 乙酸，125mL 双蒸水）固定 30min；

(2) 将固定液倒掉，加入敏化液（0.5g 硫代硫酸钠，17g 乙酸钠，75mL 乙醇，最后定容至 250mL）敏化 30min；

(3) 倒掉敏化液，加入双蒸水洗 3 次，每次 5min；

(4) 倒掉水，加入银染液（0.625g 硝酸银加水至 250mL）染色 20min；

(5) 倒掉染色液，水洗两次，每次 1min；

(6) 倒掉水，加入显影液（6.25g 碳酸钠，50 $\mu$ L 甲醛溶于 250mL 水中），3-5min 以后即可看到结果；

(7) 倒掉显影液，快速加入终止液（3.65g EDTA 溶于 250mL 水中）终止 20min；

(8) 倒掉终止液，加入双蒸水清洗胶面。

**注意：**每个步骤之间都要换干净手套，银染液配好后要避光。

6、扫描

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



**注意事项:**

1、样品处理是整个实验的关键，去污剂的浓度以及去污剂和蛋白的比例非常重要，建议进行预实验摸索最佳条件。

2、上样量需要根据上样孔的大小以及胶的厚度来决定。上样量不能太大，否则样品会沉积在上样孔中不能电泳至凝胶中。每个孔上样的样品体积不能超过上样孔容积的 4/5，所以必须控制样品的浓度，浓度太低需浓缩。

3、样品的盐离子浓度要非常低，否则会导致样品在上样孔中沉积。如果样品的盐离子浓度很高，首先必须脱盐。

4、所有操作必须在冰上进行，保证复合物的完整性。

5、由于本预制胶改进了 BIORAD 的 mini 胶板两侧上端与硅胶垫接触的凹陷结构，使其兼容所有厂家的 mini 胶电泳槽。使用时需将 BIORAD 的绿色硅胶封闭垫取出后反过来安装，使其没有凸起的平滑面朝外，防止漏液。使用 Life 的电泳槽时，需配合特制挡板一起使用，请联系经销商索取。

6、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。

7、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**保存条件:**

1、4-8°C，可以存放 2 个月；

2、请勿置于 0°C 以下，以免凝胶产生气泡和裂纹；

3、常温运输，常温保存时应放置于阴凉处，避免温度剧烈变化和阳光直射。

