

## 说明书 Instructions

产品名称 蛋白预制胶(Blue Native PAGE)

产品编号 S208747A 规格 分离胶浓度:4-13%,孔数:10孔,厚度:1.5mm

**简介:** Blue Native PAGE(BN-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10kDa-10MkDa范围内的蛋白质以及蛋白质复合物。

BN-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BN-PAGE结合SDS-PAGE的方式。

### 使用说明(仅供参考):

#### 1. 样品处理

#### 2. 电泳

- ①将处理好的样品用微量进样器点在上样孔中
- ②倒入1X阴极电泳液01和1X阳极电泳液
- ③插好电源,以恒压100V开始电泳
- ④待样品跑过浓缩胶后,电压改为250V,之后可以慢慢增大,到样品最后跑完。控制电流在50mA以内。
- ⑤待样品跑到凝胶的1/3处更换阴极电泳液,将原来1X阴极电泳液01更换成1X阴极电泳液02,这样可以降低胶的背景。

#### 3. 固定和染色

当样品跑完整个凝胶后,剥胶,固定和染色。这个过程和普通的SDS-PAGE一样。用固定液(50% ddH<sub>2</sub>O, 40% 甲醇, 10%乙酸)固定30min后,水洗4次,15min一次。然后在考染液中染色过夜。

#### 4. 脱色,扫描

染色过夜后,倒掉考染液,用双蒸水脱色,到背景十分干净为止,扫描。

如果不要分析复合物各个亚基的组分,就可以直接拿Blue Native胶切胶,酶解后质谱鉴定。

若还想进一步分析复合物各个亚基的组成,则还要做二向SDS-PAGE。

注意:本公司所有产品仅供研究使用,非医用,非食用

**Note: All products of the company are for research use only, not for medical use or edible use**

上海笛柏生物科技有限公司 ShangHai D&B Biological Science and Technology Co.Ltd

电话:400-008-9730

邮箱:info@chemxyz.cn



## 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 BN 胶根据条带的位置切成长条, 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。等样品跑过浓缩胶后, 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

#### 产品保存和运输:

1. 常温运输。

2. 凝胶 4-8°C 贮存, 可以存放 2 个月。

3. 请勿置于 0°C 以下, 凝胶在 0°C 以下会冻凝, 产生气泡和裂纹, 凝胶报废。

#### 拆胶:

1. 先沿侧边胶处简单划一刀 (或先将玻璃板侧边多余密封胶材料去除);

2. 用刀在侧边胶处, 沿着玻璃板和玻璃条的缝隙切开封胶材料 (箭头处), 轻轻打开玻璃板;

注意: 本公司所有产品仅供研究使用, 非医用, 非食用

**Note: All products of the company are for research use only, not for medical use or edible use**

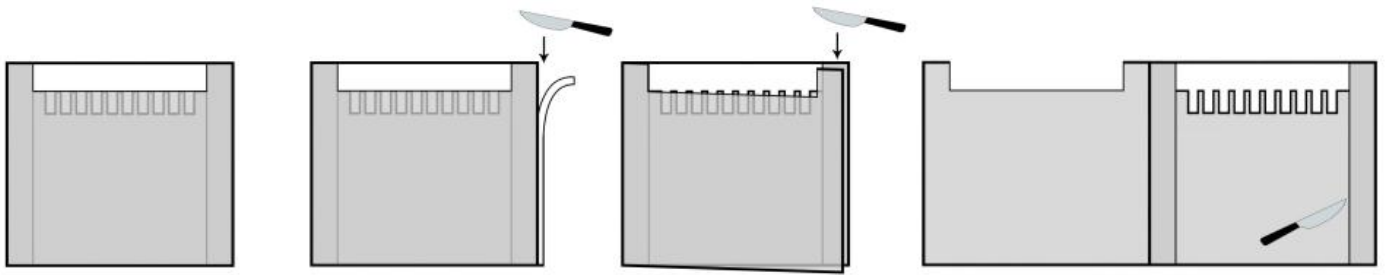
上海笛柏生物科技有限公司 ShangHai D&B Biological Science and Technology Co.Ltd

电话: 400-008-9730

邮箱: info@chemxyz.cn



3. 取胶时，需在凝胶和两侧玻璃条之间沿着玻璃条划一刀，防止取胶时发生粘连使凝胶破碎。



#### 注意事项:

1. 样品处理是整个实验的关键，样品处理最重要的是去污剂的浓度以及去污剂和蛋白的比例，这个通常需要摸索，设置不同的浓度以及比例，最后选择最佳的。
2. 上样量不能太大，太大样品会沉积在上样孔中不能下来。上样量是根据上样孔的大小以及胶的厚度来决定的。
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. 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。
5. 所有操作必须在冰上进行，保证复合物的完整性。
6. 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，不得存放于普通住宅内。
7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### GLASS Gel 兼容的电泳槽:

GLASS Gel 系列预制胶可以兼容大部分的 mini SDS-PAGE 电泳槽，包括

- a. Bio-Rad Mini-PROTEAN (II/3 /Tetra System)
- b. Hoefer Mighty Small (SE 250/ SE 260/ SE 280)
- c. Life Technology Novex Mini-Cell (请与本公司特制挡板配合使用)
- d. 北京六一 DYCZ-25E、DYCZ-24K、DYCZ-24KS、DYCZ-24KF
- e. 君意东方 JY-SCZ2+
- f. 天能 VE180
- g. 或其它胶板宽度在 10 厘米的电泳槽

#### 在 Life Technology Novex 电泳槽中的应用:

由于 GLASS Gel 系列预制胶比 Invitrogen NuPAGE 预制胶略薄，所以需要特制的挡板，使得该系列预制胶能够适用于 Life Technology Novex 电泳槽。

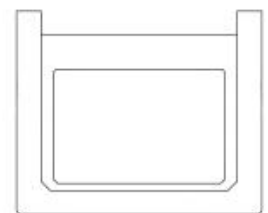
注意:本公司所有产品仅供研究使用,非医用,非食用

**Note: All products of the company are for research use only, not for medical use or edible use**

上海笛柏生物科技有限公司 ShangHai D&B Biological Science and Technology Co.Ltd

电话:400-008-9730

邮箱:info@chemxyz.cn



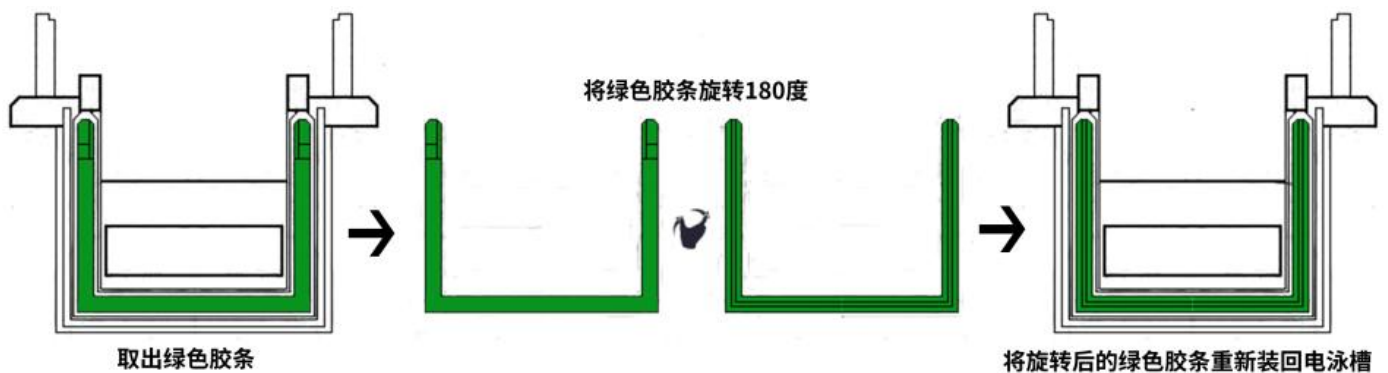
将挡板置于凝胶的外侧



### 在 Bio-Rad 电泳槽中的应用：

Bio-Rad Mini-PROTEAN 系列电泳槽的 U 型密封条顶部有突起结构，而 GLASS gel 系列预制胶的短玻板是凹形结构，因此该部位是平的，电泳前需将具有突起结构的密封条取出后反过来安装，是平滑面朝外，从而防止漏液（如下图所示）。另有厚度约为 0.5mm 的塑料垫片，请根据您的电泳槽的实际宽度进行相应的增加。

- 将 Bio-Rad 电泳槽中的 U 型密封条（如图绿色部分）拉出，注意这时的密封条两端是有突起的，突起的这面为正面，无突起的为反面。
- 将密封条旋转 180 度（正面朝里，反面朝外），重新装回电泳槽中，注意把密封圈周边压实，防止发生漏液。
- 放置好预制胶进行正常的电泳操作即可。



注意:本公司所有产品仅供研究使用,非医用,非食用

**Note: All products of the company are for research use only, not for medical use or edible use**

上海笛柏生物科技有限公司 ShangHai D&B Biological Science and Technology Co.Ltd

电话:400-008-9730

邮箱:info@chemxyz.cn

