



GLASS gel 预制胶 Blue Native PAGE

产品简介:

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(digiton in)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。

基本信息:

胶板尺寸: 宽×高×厚度为 98×84×4.1mm;

凝胶尺寸: 宽×高×厚度为 81×74×1.5mm;

Acr-Bis: 29: 1;

浓缩胶: 4%， 1.5cm;

凝胶厚度: 1.5mm;

孔数: 10 孔

最大上样量: 60μL

包装: 10 片/盒。

预制胶选择指导:

产品编号	浓度	孔数	最大上样量	电泳液
JXN1000413	4-13%	10孔	60μL	Blue Native

使用说明:

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 1× 阴极电泳液 01 和 1× 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 1× 阴极电泳液 01 更换成 1× 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% ddH₂O，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。

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 μ 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。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 μ 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。

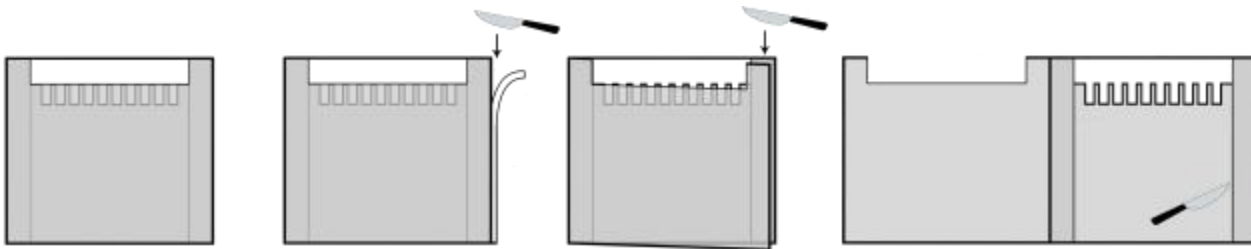
6. 扫描

产品保存和运输:

1. 凝胶4-8℃贮存，可以存放2个月。
2. 请勿置于0℃以下，凝胶在0℃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；
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。
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 迷你预制胶兼容的电泳槽:

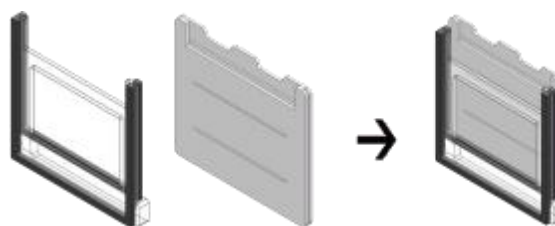
GLASS gel 系列预制胶可以兼容大部分的mini SDS-PAGE 电泳槽，包括

- 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
 - d. Life Mini Gel Tank 小型胶电泳槽
 - e. 北京六一 DYCZ-25E、DYCZ-24K、DYCZ-24KS、DYCZ-24KF;
 - f. 君意东方 JY-SCZ2+;
 - g. 天能 VE180;
- 或其它胶板宽度在 10 厘米的电泳槽。

在 Life 电泳槽中的应用：如有需要，请在订购本产品时告知



将挡板01置于凝胶的外侧



将挡板02置于凝胶的内侧

在 Bio-Rad 电泳槽中的应用：

Bio-Rad Mini-PROTEAN 系列电泳槽的U型密封条顶部有凸起结构，而万生昊天 GLASS gel 系列预制胶的短玻板是凹形结构，因此该部位是平的，电泳前需将具有凸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凸起的，凸起的这面为正面，无凸起的为反面。
- 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。



官方网址：<http://www.genesion.com.cn>
订货热线：4006169114、020-84224925
Email:whiga22@126.com

