

## GlassPAGE™ Blue Native 预制胶 使用说明书

### 产品简介:

GlassPAGE™ Blue Native 预制胶(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 66 kDa - 669 kDa 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。

### 基本信息:

胶板尺寸: 宽×高×厚度为 100 × 84 × 4.6 mm

凝胶厚度: 1.5 mm

凝胶尺寸: 宽×高×厚度为 81 × 74 × 1.5 mm

孔数: 10 孔, 15 孔

Acr-Bis: 29: 1

最大上样量: 60 μL, 30 μL

浓缩胶: 4%, 1.5 cm

包装: 10 片/盒

### 产品运输和保存:

1. 2-8°C 储存, 保质期 2 个月;
2. 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, 导致凝胶报废。

### 预制胶选择指导:

产品编号	浓度	孔数	最大上样量	电泳液
WSA58328-1	4-13%	10 孔	60 μL	Blue Native
WSA58328-2	4-13%	15 孔	30 μL	Blue Native

### 使用说明:

#### 样品处理

#### 电泳

1. 将 GlassPAGE™ Blue Native 预制胶从包装袋中取出, 固定在电泳槽中, 安装好电泳装置;
2. 向电泳槽外槽加入 1 × Blue Native PAGE 阳极缓冲液 (A58387), 内槽加入 1 × Blue Native PAGE 阴极缓冲液 A (A58387)。内槽加满电泳缓冲液, 外槽电泳缓冲液需至少加至 1/3 液面, 最高不可漫过胶板, 然后缓慢拔出梳子;
3. 用移液器轻轻吹打加样孔, 清除残余胶液;
4. 将处理好的样品用微量进样器点在上样孔中。上样时注意枪头勿刺破凝胶或插入过深使胶板变形造成后续电泳时漏液;
5. 接通电源, 恒压条件下 (100 V) 跑胶。待样品跑过浓缩胶后, 电压改为 250 V, 之后可以慢慢增大, 到

样品最后跑完，电流控制在 50 mA 以内；

6. 待样品跑到凝胶的 1/3 处更换阴极电泳液，将原来 1 × Blue Native PAGE 阴极缓冲液 A(A58387-1) 更换成 1 × Blue Native PAGE 阴极缓冲液 B(A58387-2)，继续后续电泳。

**注：**更换阴极电泳液可以降低凝胶的背景。

### 固定和染色

1. 将电泳后的凝胶取下放入容器中，加入适量固定液（50% ddH<sub>2</sub>O，40% 甲醇，10% 乙酸）固定 30 min 后，蒸馏水漂洗 4 次（15 min/次）；

2. 向固定后的凝胶中加入适量考马斯亮蓝快速染色液（免脱色），确保完全覆盖胶面，染色过夜。

### 脱色，扫描

1. 染色过夜后，倒掉考染液；

2. 加入适量蒸馏水脱色，期间更换 1 - 2 次蒸馏水，摇床常温摇动 10 - 15 分钟至凝胶背景干净；

3. 观察、扫描并保存结果。

若不需要分析复合物各个亚基的组分，可以直接切胶，酶解后进行质谱鉴定。

若要进一步分析复合物各个亚基的组成，则需要做“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 2 h，水洗 20 min；

3. 转移：先将 0.05 g 琼脂糖、10 mL 电泳缓冲液和 30 μL 溴酚蓝混合并加热溶解。然后，将平衡好的胶条放置在二向 SDS 凝胶的浓缩胶表面，使用压胶片将胶条压紧，确保胶条与凝胶表面紧密结合且无气泡。最后，在胶面上再封上一层琼脂糖；

4. 跑胶：待琼脂糖凝固后，将玻璃板放置于电泳槽中，加入电泳缓冲液，设置恒流为 25 mA 开始电泳。待样品通过浓缩胶后，将电流调至 45 mA，继续电泳直至结束；

5. 银染：

①在固定液(100 mL 乙醇，25 mL 乙酸，125 mL ddH<sub>2</sub>O)中固定 30 min；

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

③倒掉敏化液，双蒸水漂洗3次（5 min/次）。弃水后加入银染液(625 g 硝酸银加水至 250 mL)染色20 min；

④倒掉染色液，双蒸水漂洗 2 次（1 min/次）。弃水后加入显影液（6.25 g 碳酸钠，50 μL 甲醛溶于 250 mL 水中），3 - 5 min 左右即观察到结果；

⑤倒掉显影液，快速加入终止液（3.65g EDTA 溶于 250 mL 水中）终止 20 min；

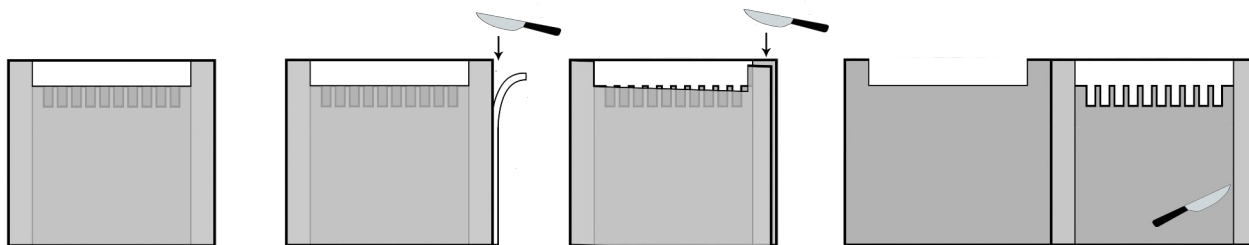
⑥倒掉终止液，加入双蒸水漂洗胶面。

**注：**每个步骤之间都要换干净手套，银染液配好后需要避光存放。

6. 扫描保存结果。

## 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。



## 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

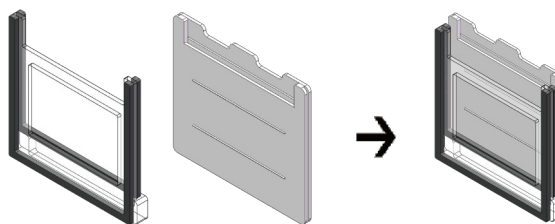
- a. Bio-Rad Mini-PROTEAN (II/3 /Tetra System);
- b. Hoefer Mighty Small (SE 250/ SE 260/ SE 280);
- c. Life Technology Novex Mini-Cell
- d. Life Mini Gel Tank 小型胶电泳槽
- e. 北京六一 DYCZ-25E、DYCZ-24K、DYCZ-24KS、DYCZ-24KF;
- f. 君意东方 JY-SC22+;
- g. 天能 VE180;

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



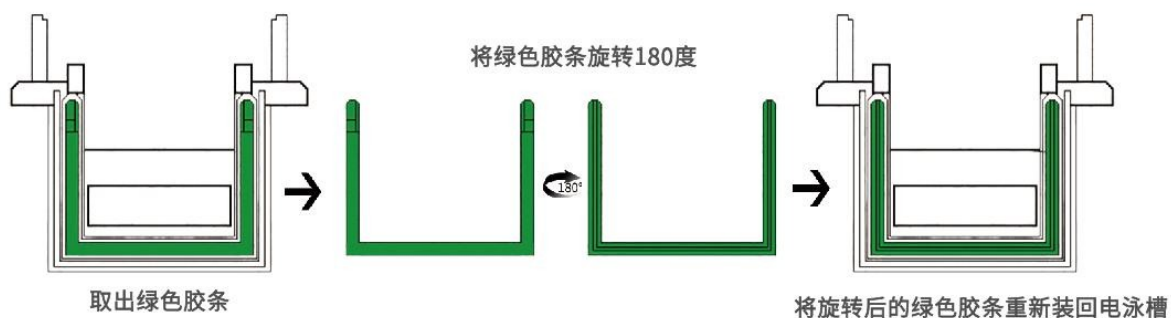
将挡板 02 置于凝胶的内侧

## 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）。

- a. 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；
- b. 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；

c. 放置好预制胶进行正常的电泳操作即可。



### 注意事项:

1. 样品处理是实验的关键，其中去污剂的浓度和去污剂与蛋白的比例至关重要。这通常需要通过反复试验，调整不同浓度和比例，最终确定最佳条件；
2. 上样量应适当，过多的样品可能在上样孔中沉积，无法顺利进入凝胶。上样量应根据上样孔大小和凝胶厚度来确定；
3. 样品的盐离子浓度必须非常低，否则会导致样品在上样孔中沉积。如盐浓度过高，需先进行脱盐处理；
4. 每个上样孔的样品体积不得超过孔容积的 4/5，因此需要控制样品浓度；若浓度过低，应先进行浓缩；
5. 所有操作应在冰上进行，以确保复合物的稳定性和完整性；
6. 仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床医学诊断及其他非合理用途。不得存放于普通住宅内；
7. 为了您的安全和健康，请穿戴好个人防护装备和实验服装进行操作。

