

## 蛋白预制胶(Tris-Gly) 说明书

### 基本信息:

|                               |                               |
|-------------------------------|-------------------------------|
| 胶板尺寸: 100 x 89 x 4.8mm(宽、高、厚) | 凝胶厚度: 1mm                     |
| 凝胶尺寸: 85 x 74 x 1mm(宽、高、厚)    | 孔数: 10 孔、15 孔                 |
| Acr-Bis: 29: 1                | 最大上样量: 50 $\mu$ L, 30 $\mu$ L |
| 浓缩胶: 4%, 1.5cm                | 包装: 10 片/盒                    |

### 适用货号:

P001、P002、P003、P004、P005、P006、P007、P008、P009、P010、P012、P013、P014、P015、P016。

### 运输和保存:

1. 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；
2. 2-8°C 储存，保质期 12 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，导致凝胶报废。

### 产品说明:

蛋白预制胶(Tris-Gly)是一款安全、快捷、高性能的预制聚丙烯酰胺凝胶，常用于 PAGE 和 Western blot 检测。具有以下特点:

- ◆ 采用镀膜塑料胶板，有效减少蛋白非特异性吸附。蛋白条带更为敏锐，清晰。
- ◆ 电泳时间短，使用超快电泳缓冲液(P109)，220V 下电泳 20 min 即可完成
- ◆ 胶夹易开，塑料板可用螺丝刀轻松撬开
- ◆ 预制胶中不含 SDS，可用于变性和非变性电泳
- ◆ 采用自动化的灌胶生产技术，确保产品质量的高稳定性和重复性
- ◆ 兼容 Bio-Rad、Invitrogen、天能、君意东方、北京六一等主流 mini 电泳槽
- ◆ 提供多种浓度的均一胶和梯度胶，均一胶可选浓度: 8%, 10%, 12%, 15% 梯度胶可选浓度: 4-15%, 4-20%, 8-16%, 8-20%。

### 操作步骤:

预制胶本身都不含 SDS，可根据电泳缓冲液的不同用于变性电泳和非变性电泳。

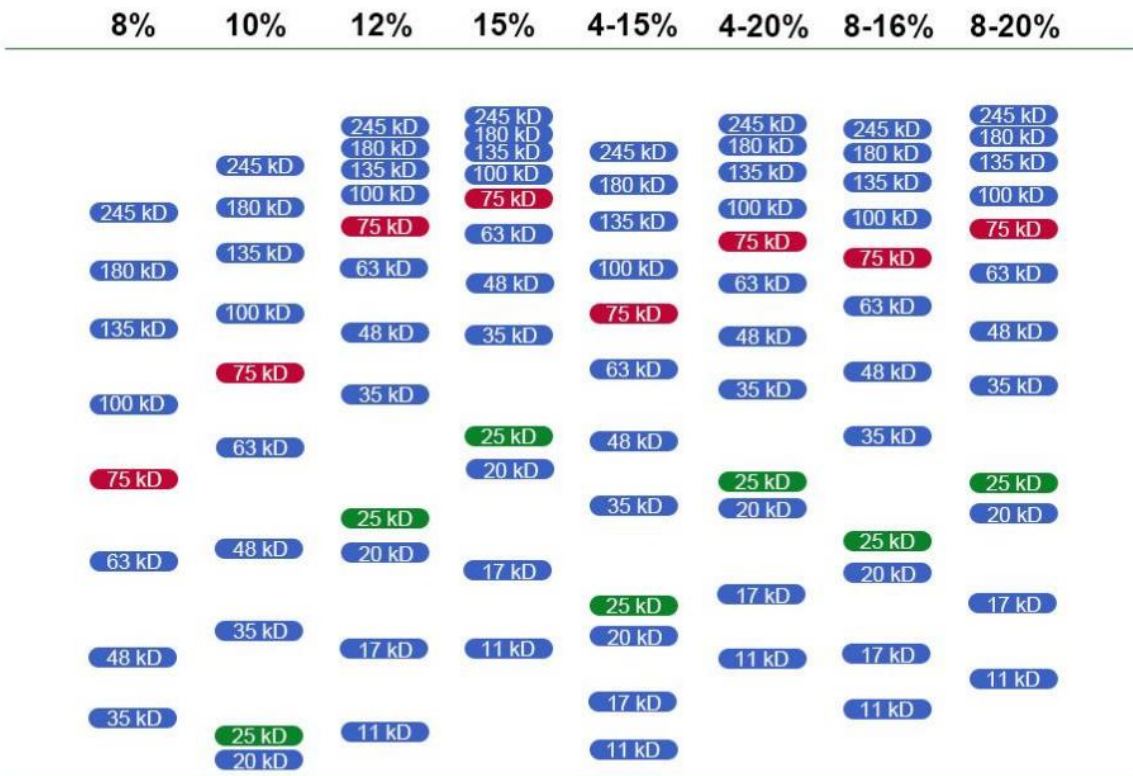
#### A. 变性电泳 (SDS-PAGE)

1. 将蛋白预制胶(Tris-Gly)从包装袋中取出，撕掉底部密封胶带。固定在电泳槽中，安装好电泳装置；
2. 向电泳槽中加入 1  $\times$  Tris-甘氨酸-SDS 电泳缓冲液。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. 上样: 将蛋白样品与 5  $\times$  变性 Loading buffer 进行 4: 1 混合均匀，加热处理。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，恒压条件下跑胶 (180 V)，当溴酚蓝指示带电泳至胶板底部，或实验预定位置时，即可结束电泳；
6. 电泳结束，取出凝胶。用螺丝刀在板子侧边缘慢慢撬开板子，打开胶盒，轻轻取出凝胶。

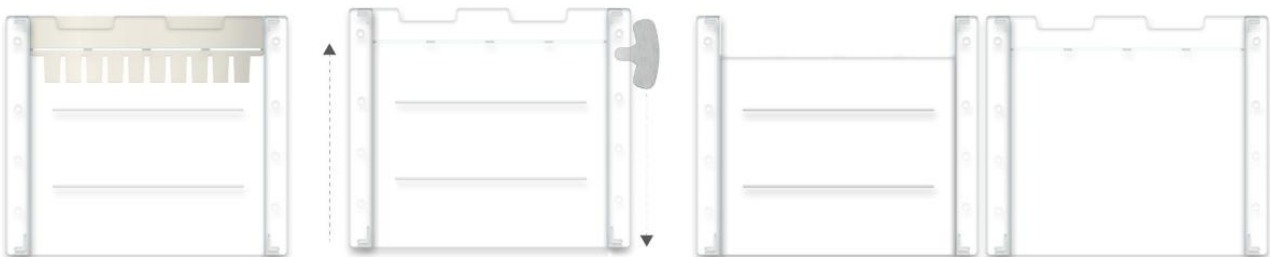
## B.非变性电泳 (Native-PAGE)

1. 将蛋白预制胶(Tris-Gly)从包装袋中取出，撕掉底部密封胶带；
  2. 将预制胶固定在电泳槽中；
  3. 向电泳槽中加入 1 × Tris-Glycine 非变性电泳缓冲液。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；
  4. 用移液器轻轻吹打加样孔，清除残余胶液；
  5. 上样：将非变性蛋白样品与 5 × 非变性 Loading buffer 进行 4: 1 混合均匀。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；（酸性蛋白（等电点 pI<7）正常上样电泳即可。反之，碱性蛋白（等电点 pI>7）带正电荷，需将电极插反（红插黑，黑插红），这时上样孔成为正极，样品向下电泳）
  6. 接通电源，恒压条件下（180 V）跑胶。当溴酚蓝指示带电泳至胶板底部，或实验预定位置时，即可结束电泳。
  7. 电泳结束，取出凝胶。用螺丝刀在板子侧边缘慢慢撬开板子，打开胶盒，轻轻取出凝胶。
- 注：非变性胶的蛋白迁移率受到蛋白分子量、蛋白空间结构等多种因素影响。

### 预制胶分离图谱（变性）：



### 拆胶：



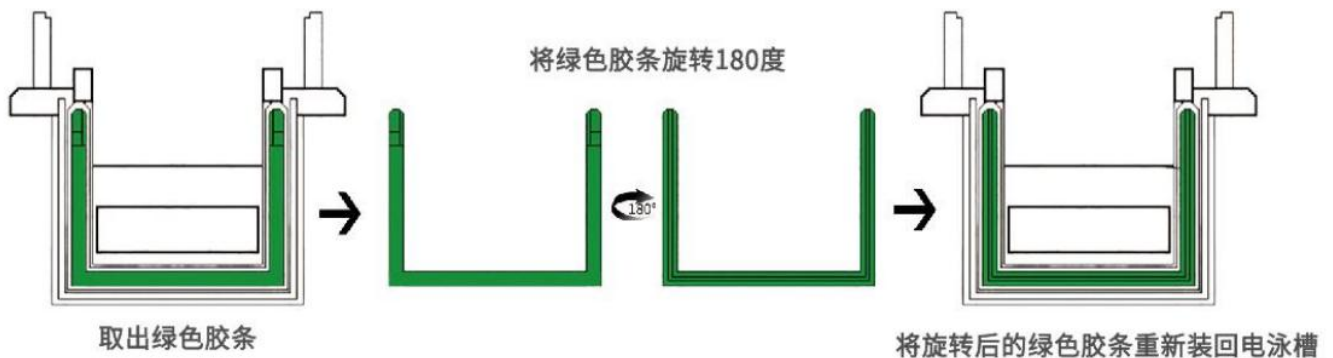
## 兼容的电泳槽:

Bio-Rad Mini-PROTEAN (II/3 /Tetra System); Hoefer Mighty Small (SE 250/ SE 260/ SE 280); 北京六一 DY CZ-25E、DY CZ-24K、DY CZ-24KS、DY CZ-24KF; 君意东方 JY-SCZ2+; 天能 VE180; 或其它胶板宽度在 10 cm 的电泳槽。

## 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 0.5 mm 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。



## 注意事项:

- 蛋白预制胶 (Tris-Gly) 为 Tris-Gly 缓冲系统, 配套使用 Tris-Gly 电泳缓冲液;
- 如果需要蛋白条带更加清晰、平直, 可降低电压至 150 V, 并适当延长电泳时间;
- 电压为 180 V 电泳时, 1 块胶的初始电流在 75 mA 左右, 2 块胶的初始电流在 150 mA 左右, 且随时间增加电流逐步降低;
- 电泳缓冲液不建议重复使用。因为经过电泳之后, 缓冲液中的离子强度、缓冲能力都发生了变化, 不能确保电泳效果;
- 湿转时 120 V 恒压转膜 60 - 90 min。为达到更好的转膜效果, 可以根据预制胶上残留的预染 marker 及膜上的预染 marker 确定转膜效率, 并对转膜条件进行适当调整。目的蛋白的分子量, 凝胶浓度及转膜液中的甲醇浓度都会影响转膜效率。大蛋白尽量选择低浓度的胶;

| 蛋白分子量  | 100 kDa 以上 | 10-100 kDa | 10 kDa 以下 |
|--------|------------|------------|-----------|
| 建议甲醇浓度 | 5%         | 10%        | 20%-30%   |

- 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;
- 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。