

ExpressPlus™ 10×10 预制胶

版本: 03072016

I	简介	1
II	凝胶选择指导.....	2
III	兼容的电泳槽.....	4
IV	预制胶使用指导.....	4
V	凝胶染色.....	10
VI	蛋白转印.....	10
VII	凝胶实例.....	11
VIII	问题分析及解决方法.....	12
IX	相关产品和订单信息.....	13

I. 简介

金斯瑞ExpressPlus™预制胶是高性能的聚丙烯酰胺小型预制胶，专门为较大上样量而设计。其独一无二的胶板设计提供了更好的条带分辨率并且显著提高了样品在上样孔里的分布状态，使得条带更加均匀。因为ExpressPlus™预制胶的缓冲液为pH中性，所以能最大程度地减轻聚丙烯酰胺的水解从而提高凝胶稳定性。

不含SDS的ExpressPlus™预制胶是SDS-PAGE电泳与非变性凝胶电泳理想首选，依赖于采用的运行缓冲液与转移缓冲液。独特的凝胶制造工艺保证批次间优秀的稳定性和可靠的条带分布一致性。ExpressPlus™预制胶采用独特配方的Tris-MOPS 电泳缓冲液能够快速简单的分离蛋白质，便于后续转膜或染色检测。

ExpressPlus™预制胶提供不同浓度的梯度胶和固定浓度胶。梯度浓度包括(4-20%, 4-12%与8-16%)，固定浓度胶包括(8%, 10% 与 12%) 点样孔数分别为10孔，12孔和15孔。

主要特点：

- **大上样量**—每孔最高可达70 µl
- **使用简单**—更宽的上样口设计方便10 µl移液器枪头上样
- **高分辨率**—蛋白条带分离更为清晰
- **长保质期**—2-8 °C可稳定保存12个月
- **高稳定性**—每片胶的实验结果十分稳定
- **低成本**—显著节约实验成本
- **适用 Novex 系统**—适用于 XCell SureLock™ 和 Bolt™ 小型电泳槽

金斯瑞ExpressPlus™预制胶参数

类别	10×8凝胶	10×10凝胶
凝胶成分	聚丙烯酰胺	聚丙烯酰胺
凝胶尺寸	7.4 cm×8.4 cm(高×宽)	8.6 cm×8.0 cm(高×宽)
凝胶厚度	1.0 mm	1.0 mm
分离胶高度	6 cm	6.5 cm
胶板尺寸	8.4 cm×10.0 cm(高×宽)	10.2 cm×10.0 cm(高×宽)
胶板材料	苯乙烯共聚物	聚甲基丙烯酸甲酯
梳子材料	苯乙烯共聚物	聚碳酸酯
储存条件	储存温度2°C到 8°C; 请勿冷冻	储存温度2°C到 8°C;请勿冷冻

重要说明

ExpressPlus™预制胶会因为存储不当造成一些问题。凝胶应该在2-8°C条件下平放存储。避免凝胶被冷冻或者被长时间放置在8°C以上环境中。如果您怀疑凝胶存储不当，**应该及时丢弃**。

II. 凝胶选择指导
表1. 凝胶选择指导

目录号	胶浓度	孔数	电泳缓冲液	转印缓冲液	蛋白分离范围
M00810LC	8%	10	MOPS, MES	Tris-Bicine, Tris-glycine	250-15 kDa
M01010LC	10%	10	MOPS, MES	Tris-Bicine, Tris-glycine	230-10 kDa
M01210LC	12%	10	MOPS, MES	Tris-Bicine, Tris-glycine	200-6 kDa
M42010LC	4-20%	10	MOPS, MES	Tris-Bicine, Tris-glycine	250-3.5 kDa
M81610LC	8-16%	10	MOPS, MES	Tris-Bicine, Tris-glycine	230-6 kDa
M41210LC	4-12%	10	MOPS, MES	Tris-Bicine, Tris-glycine	250-15 kDa
M00812LC	8%	12	MOPS, MES	Tris-Bicine, Tris-glycine	250-15 kDa
M01012LC	10%	12	MOPS, MES	Tris-Bicine, Tris-glycine	230-10 kDa
M01212LC	12%	12	MOPS, MES	Tris-Bicine, Tris-glycine	200-6 kDa
M42012LC	4-20%	12	MOPS, MES	Tris-Bicine, Tris-glycine	250-3.5 kDa
M81612LC	8-16%	12	MOPS, MES	Tris-Bicine, Tris-glycine	230-6 kDa
M41212LC	4-12%	12	MOPS, MES	Tris-Bicine, Tris-glycine	250-15 kDa
M00815LC	8%	15	MOPS, MES	Tris-Bicine, Tris-glycine	250-15 kDa
M01015LC	10%	15	MOPS, MES	Tris-Bicine, Tris-glycine	230-10 kDa
M01215LC	12%	15	MOPS, MES	Tris-Bicine, Tris-glycine	200-6 kDa
M42015LC	4-20%	15	MOPS, MES	Tris-Bicine, Tris-glycine	250-3.5 kDa

M81615LC	8-16%	15	MOPS, MES	Tris-Bicine, Tris-glycine	230-6 kDa
M41215LC	4-12%	15	MOPS, MES	Tris-Bicine, Tris-glycine	250-15 kDa

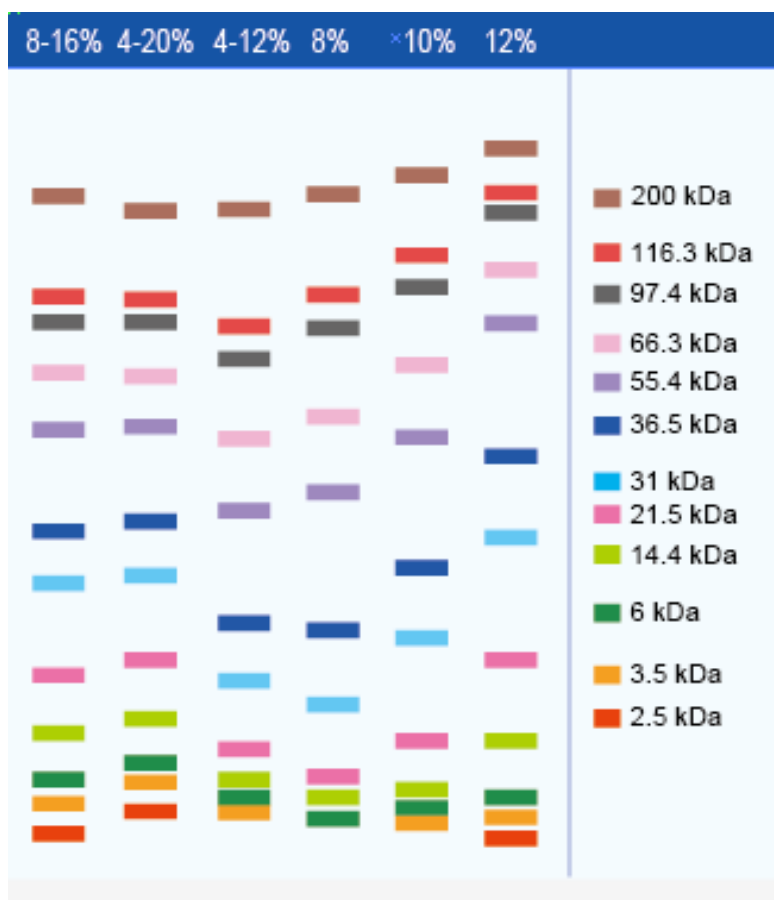
表2.上样量建议

	最大上样量	推荐上样量	每孔最大总蛋白量	推荐上样蛋白量
10×10 凝胶,10 孔	70 μ l	5-20 μ l	60 μ g	500 ng-1 μ g
10×10 凝胶,12 孔	45 μ l	4-15 μ l	50 μ g	350 ng-1 μ g
10×10 凝胶,15 孔	30 μ l	3-10 μ l	40 μ g	200 ng-1 μ g
10×8 凝胶,10 孔	80 μ l	5-25 μ l	60 μ g	500 ng-1 μ g
10×8 凝胶,12 孔	60 μ l	4-20 μ l	50 μ g	350 ng-1 μ g
10×8 凝胶,15 孔	40 μ l	3-15 μ l	40 μ g	200 ng-1 μ g

备注：每孔最大总蛋白数是以小牛血清白蛋白（BSA）为测试对象而获得的结果，样品中的蛋白种数越多，所允许的每孔最大总蛋白数越低。过高的蛋白量会导致较低的分辨率，请根据实际效果进行调整。

以下的蛋白迁移表可以帮助您选择合适的凝胶进行蛋白电泳。

表 3. 蛋白迁移表



单位值: 千道尔顿 (kDa)

III. 兼容的电泳槽

电泳槽	10×8 预制胶	10×10 预制胶
伯乐 Mini-PROTEAN® II & 3电泳槽	兼容	不兼容
伯乐 Mini-PROTEAN® Tetra 电泳系统	兼容	不兼容
LONZA PAGER™小型电泳槽	不兼容	兼容
Hoefer SE250 Mighty Small II小型垂直电泳槽	兼容	不兼容
Hoefer SE260 Mighty Small II Deluxe 小型垂直电泳槽	兼容	兼容
Life Technologies NovexXCellSurelock®小型电泳槽	不兼容	兼容
Life Technologies Bolt™小型电泳槽	不兼容	兼容*

*使用Bolt™小型电泳槽前在底部添加垫片，保证形成电流回路。

IV. 预制胶使用指导

注意事项：

使用ExpressPlus™预制胶前戴好手套，做好各项防护措施。使用本产品前请阅读化学品安全技术说明书(MSDS)。MSDS请查询我司网站www.genscript.com.cn 下载ExpressPlus™预制胶产品相关文件

A. 电泳缓冲液和电泳槽准备

1. 取一包 MOPS 电泳缓冲液粉末(目录号 M00138)溶解在 1L 的去离子水中制成 1x 电泳缓冲液。可参考 B 部分 MOPS 缓冲液与 MES 缓冲液的配方自行配制。
 2. 将预制胶从包装袋中取出，撕掉底部胶带。
 3. 平稳地将梳子从胶板中推出。
 4. 将胶板放入凝胶电泳槽装置中。
- 请参阅电泳槽装置制造商的使用说明。

Life Technologies Bolt™ 小型电泳槽使用注意事项:

ExpressPlus™ 预制胶可以使用 Bolt™ 小型电泳槽，请将随胶附送的蓝色塑料垫片按照以下说明使用。(使用 Novex XCell SureLock™ 电泳槽跑 ExpressPlus™ 预制胶时无需该垫片。)

详见图 1 至图 3 Bolt™ 小型电泳槽与垫片的使用说明

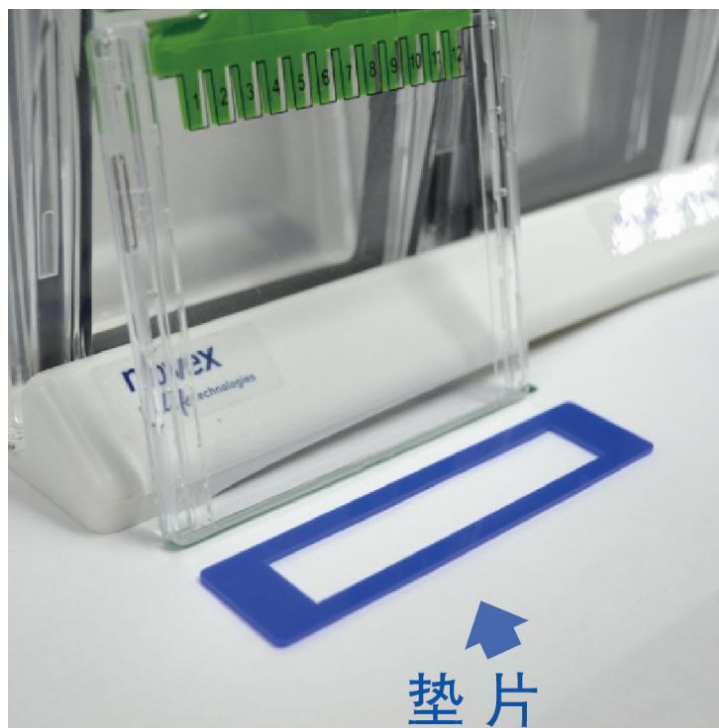


图 1. 使用 Bolt™ 小型电泳槽需要添加垫片

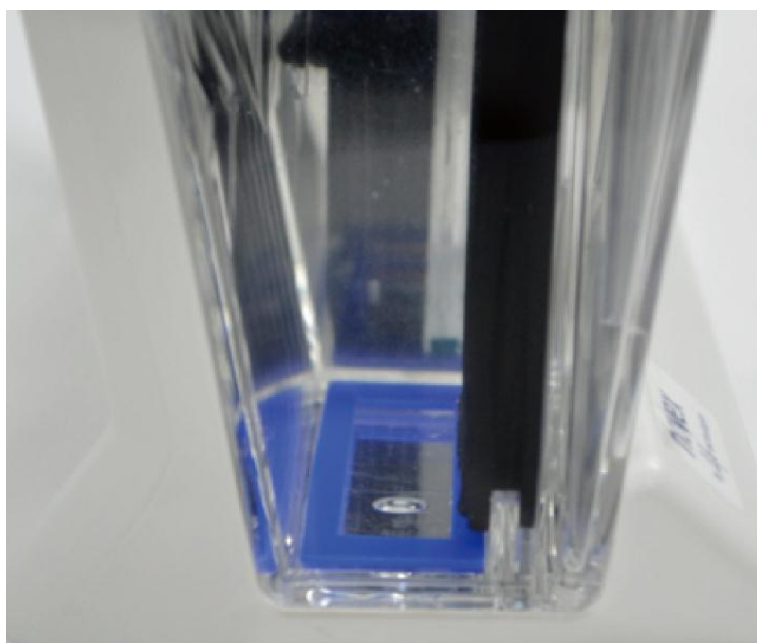


图 2. 把垫片放置在 Bolt™ 小型电泳槽底部，保证完整的电流回路

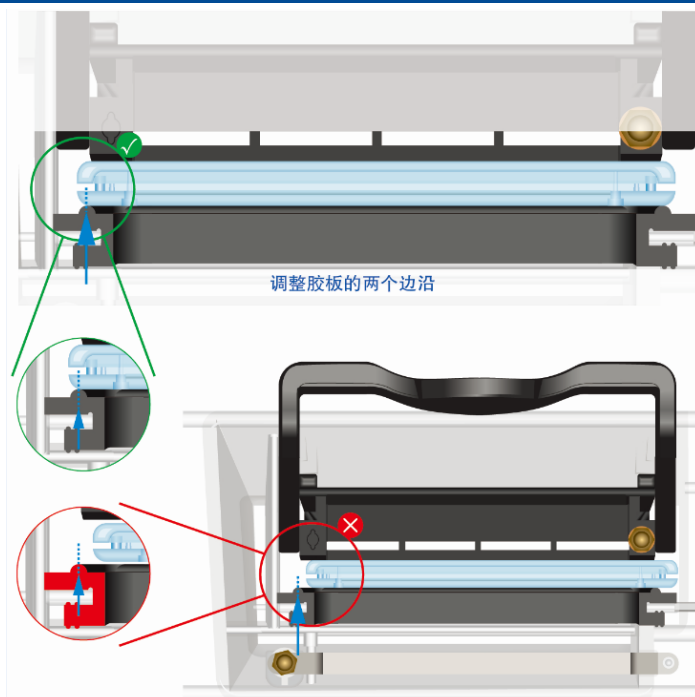


图3. 调整胶板边缘与橡胶垫的位置，防止缓冲液渗漏

提示：

1. 使用电泳缓冲液或水测试电泳槽内槽是否漏水；
2. 为了使操作更便捷，请把电泳槽中原装的黑色活动手柄夹具替换成带限位功能的灰色活动手柄夹具（Gray cam handles, Thermo Fisher Cat.No.A26732）。
3. 在电泳槽内槽中倒入足够的 1x MOPS 或 MES 电泳缓冲液使其覆盖上样孔 5-7mm，在外槽加入 1x MOPS 或 MES 来确保它适当的冷却。为了获得最好的效果，外槽的缓冲液应该要略高于上样孔的顶部。（ExpressPlus™ 预制胶请勿使用 tris-glycine 电泳缓冲液）
4. 用 1x 的电泳缓冲液将上样孔彻底冲洗干净，去除气泡和残留的储存缓冲液。

B. 样品的制备

1. 变性电泳（SDS-PAGE）

样品制备

5x sample buffer配方:

SDS	1.0 g
甘油	5.0 ml
溴酚蓝	25 mg
Tris base	150 mg
β -巯基乙醇	1.0 ml
去离子水 (使用 8 M NaOH或8 M HCl调 pH 至6.8)	加至10 ml

10x MES 电泳缓冲液配方:

Tris base	60.6g
MES	97.6g
SDS	10g
EDTA	3g
去离子水 (使用 8 M 氢氧化钠或 8 M 盐酸调 pH 至7.3)	加至1000 ml

10x MOPS 电泳缓冲液配方:

Tris base	60.6g
MOPS	104.6g
SDS	10g
EDTA	3g
去离子水 (使用 8 M 氢氧化钠或 8 M 盐酸调 pH 至7.3)	加至 1000 ml

样品处理：

蛋白样品	x μ l
蛋白样品缓冲液 (5x)	2 μ l
去离子水	加至 10 μ l

上样前将样品加热至 100°C十分钟。

2. 非变性电泳 (Native PAGE)

ExpressPlus™ 预制胶不含SDS，可用于非变性电泳。蛋白质样品用非还原性和非变性的样品缓冲液制备，以保持蛋白质的二级结构和原生电荷。蛋白质的迁移率取决于蛋白质的大小以及它的净电荷的大小和性质。

样品制备

5x sample buffer配方:

甘油	5 ml
溴酚蓝	25 mg
Tris base	150 mg
β-巯基乙醇	1.0 ml(若需)
去离子水 (使用 8 M NaOH或 8 M HCl调pH 至 6.8)	加至 10 ml

10x MES 电泳缓冲液配方:

Tris base	60.6g
MES	97.6g
EDTA	3g
去离子水 (使用 8 M NaOH或8 M HCl调 pH 至7.3)	加至 1000 ml

10x MOPS 电泳缓冲液配方:

Tris base	60.6g
MOPS	104.6g
EDTA	3g
去离子水	加至1000 ml

注: 金斯瑞MOPS电泳缓冲液粉末(Cat No. M00138) 含有SDS，不适用于非变性电泳

样品处理:

蛋白样品	x μl
蛋白样品缓冲液(5x)	2 μl
去离子水	加至10 μl

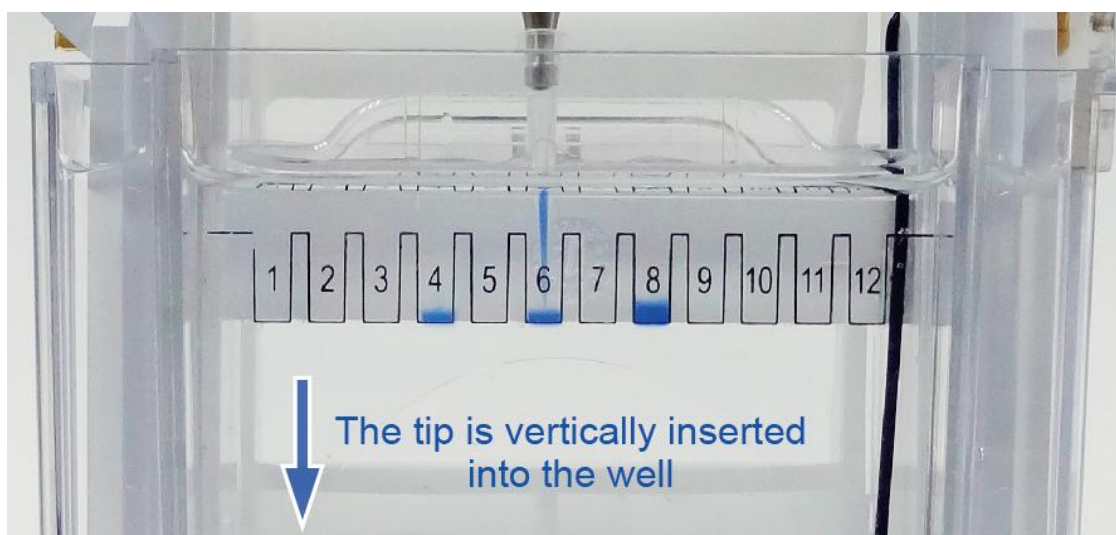
不要加热样品。

3. 电泳过程

蛋白样品上样

确保上样枪头的尖端垂直插入到上样孔中，这样能获得最佳上样效果

图4. 上样方法



最佳上样量必须通过实验来确定，样品过量会导致条带的拖尾和失真。加入过量的蛋白以及自由状态的碳水化合物，可能会导致条带变形或者蛋白无法穿入胶中(见故障排除)。

将电泳槽盖子盖好，并将电源线插头插入电泳仪电源插孔（红对红，黑对黑），在180V电压下电泳50-55分钟直至溴酚蓝条带接近凝胶底部，用户需要考虑目标蛋白的大小（图 1至3）。

表3.一块4-20% ExpressPlus™10×10预制胶的电泳参数

电压	开始电流	结束电流	电泳时间
180 V (推荐)	70-100 mA	30-50 mA	50-55分钟
200 V	80-110 mA	35-55 mA	45-50分钟
220 V	90-120 mA	40-60 mA	40-45分钟

推荐使用180伏恒压电泳！待指示剂前沿到达距离胶板底部1厘米的时候即可停止。若为了获得更短的电泳时间而采取更高的电压，则需控制电泳缓冲液的温度，例如：将电泳槽放入冰水中，或者将冰袋放入电泳槽中以降温。

重要注意事项：

- 确保使用兼容的电泳槽，内外槽之前液体的泄漏会导致低迁移率。特别是使用Bolt™小型电泳槽（见问题分析及解决方法）
- 电泳时间可能会改变，取决于你的电源和凝胶浓度。

4. 从胶板中取出凝胶

- a. 电泳结束后，根据制造商的使用说明从电泳槽中取出胶板。
- b. 通过撬具或其他工具小心的插入到两块胶板两侧之间的空隙。
- c. 轻轻向下逐步撬开两块胶板，在胶板两侧不同的位置重复撬动操作，直至胶板两侧被完全分开。
(撬开胶板时可能会有塑料碎裂声，请在撬开胶板时佩戴防护眼镜以免接触或损伤眼睛)
- d. 打开胶板时，凝胶可能粘附在两片胶板的任意一边。取下并丢弃没有凝胶的空板，让凝胶留在另一片塑料板上。蘸水后小心地从胶板上取下凝胶。使用后的胶板请丢弃在非危险医疗废物中。

C. 储存

ExpressPlus™ 预制胶储存温度为2-8°C，预制胶在此温度下躺平放置可稳定保存12个月。

V. 染色

所有标准SDS 染色过程均可应用到 ExpressPlus™ 预制胶。当使用市售染色剂和设备，请参考其说明书。

eStain® 蛋白染色系统 (Cat No. L02016)

ExpressPlus™预制胶可采用金斯瑞eStain® 蛋白染色系统染色脱色，全程只需7分钟。详情请见eStain® 系统使用手册。

eStain® 2.0 蛋白染色系统使用说明：将凝胶横放在染色滤纸上，注意长宽匹配，避免凝胶落在滤纸之外。

VI. 蛋白转印

所有常规蛋白转印手段均可应用于ExpressPlus™ 预制胶。使用1x 转移缓冲液，湿法蛋白印迹转印100V转印1到2小时。选择最佳转印时间必须依据蛋白大小和实验经验。

VII. 凝胶实例

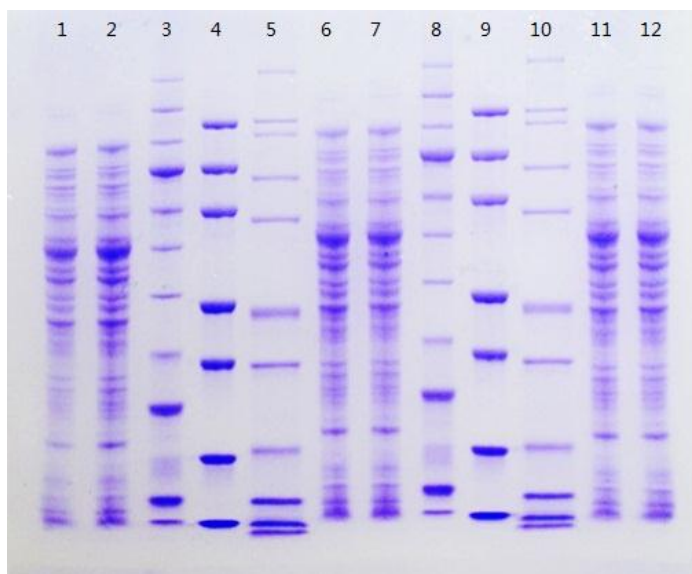


图 5. 12% ExpressPlus™预制胶蛋白分离效果

12孔12% ExpressPlus™预制胶蛋白分离效果图，选用eStain蛋白染色系统 (R-250).

1,2,6,7,11,12 泳道: 6 μ l *E.Coli* 细胞裂解液

3, 8 泳道: 5 μ l NEB Protein Standard (P7703S).

4,9 泳道: 5 μ l GenScript PAGE-Master ProteinStandard ([M00516](#));

5,10 泳道: 5 μ l Life Tech. Mark12™ Unstained Standard (LC5677);

VIII. 问题分析及解决方法

问题	可能原因	解决方法
条带弯曲	上样孔或者凝胶与胶板间存在气泡	使用注射器或者其他工具用电泳缓冲液冲刷上样孔
溴酚蓝前沿变黄	电泳缓冲液从损坏的胶板渗入胶内	选用合适的电泳槽，避免胶板过度受压而变形或损坏
	pH 值下降	使用去离子水重新配制电泳缓冲液
条带拖尾	样品难溶或者为弱电解质（如碳水化合物）	在 SDS 存在下加热样品，使用离心上清液
电泳时间过长	胶带未撕	撕掉胶板下方条带
	电泳条件有误	使用固定电压和自动电流，如：180V 恒压条件电泳
	用Bolt™电泳槽电泳时没有使用底部垫片	把预制胶放入 Bolt™电泳槽之前，在电泳槽底部放入一个特配的小垫片
	电泳时电泳缓冲液从 Bolt™电泳槽内槽中渗漏出来	调整好胶板边缘与垫片在 Bolt™电泳槽中的位置，防止缓冲液泄漏。
		升级 Bolt™电泳槽中的黑色活动夹具把手为具有限位功能的灰色夹具把手。
条带分辨率低	胶浓度选择不当	参照蛋白质迁移表选择合适浓度的凝胶
	上样量过载	减少上样量，尤其是当样品中的蛋白种类很多时，尽量避免蛋白量多大。
	上样缓冲液中SDS偏少	制备样品时增加SDS用量
	电泳缓冲液不足，无法降温	为了良好的效果，外槽的电泳缓冲液 应该与上样孔底部大致齐平
样品条带在凝胶中呈扩散状	样品含盐类过多	采用透析或者超滤除盐

染色后在指示剂前沿的位置出现预期之外的条带	凝胶中离子干扰(跑小蛋白时容易出现)	使用 MES 运行缓冲液
		电泳更长时间或者忽略它
电压无法达到设定值	电泳时内外槽漏液	使用合适的电泳槽
	样品中其他盐类干扰	通过透析或超滤除盐
凝胶与胶板间出现大量气泡	电泳缓冲液过热	在4℃环境中进行电泳
		在外槽添加更多的电泳缓冲液
样品最大上样量无法达到标称值	上样时不够小心仔细，上样过快	小心仔细缓慢地上样

IX. 相关产品和订单信息

产品	产品编号
5x Sample Buffer	MB01015
MOPS Running Buffer Powder	M00138
Transfer Buffer Powder	M00139
Smart Advanced Broad-Range Protein Standard	M00441
Smart Dual Color Pre-Stained Protein Standard	M00442
Smart Multi Color Pre-Stained Protein Standard	M00443
Protein Marker for Fluorescent Western Blotting	M00124
High Range EasyWestern Protein Standard	M00276
eStain™ L1 蛋白染色仪	L00657
PAGE-MASTER Protein Standard (for SDS-PAGE)	M00516
PAGE-MASTER Protein Standard Plus	MM1397-500
WB-MASTER Protein Standard	M00521

南京金斯瑞生物科技有限公司
 江苏省南京市江宁区科学园雍熙路28号
 订购电话：400-025-8686-5810或025-58897288-5810
 Email: product@genscript.com
 Web: <http://www.genscript.com.cn>
For Research Use Only