

BeyoGel™大分子量蛋白预制胶(Tris-Acetate, 7%, 10孔)

产品编号	产品名称	包装
P0535S	BeyoGel™大分子量蛋白预制胶(Tris-Acetate, 7%, 10孔)	10块

产品简介:

- 碧云天的BeyoGel™大分子量蛋白预制胶(Tris-Acetate) (BeyoGel™ Tris-Acetate Precast PAGE Gel for High Molecular Weight Protein)是一种主要用于大分子量蛋白(40-500kDa)检测的使用安全、便捷、高品质的常规尺寸聚丙烯酰胺预制凝胶, 采用Tris-Acetate SDS (SDS-PAGE)或Tris-Glycine (Native-PAGE)电泳缓冲系统可以分别进行变性和非变性蛋白凝胶电泳, 仅需约60分钟即可完成电泳并获得非常平整锐利的条带。本预制胶有1.5厘米高的浓缩胶, 具有非常优良的分离效果, 电泳后蛋白条带平整、清晰、细腻、锐利, 几乎没有边缘效应; 同时本预制胶胶板为玻璃材质, 减少了对蛋白的非特异性吸附, 电泳效果非常好, 达到甚至超过了自配PAGE胶的电泳效果; 兼容市场上主流的小型电泳槽, 常用于PAGE和Western检测。
- 碧云天的BeyoGel™大分子量蛋白预制胶(Tris-Acetate)提供3-8%浓度的梯度胶和7%浓度的固定浓度胶, 并有10孔和15孔两种孔数选择。如果有较大量的特殊浓度需求, 碧云天可提供定制服务。每种预制胶的最佳分离范围请参考下表:

产品编号	预制胶浓度	孔数	最大上样量	电泳缓冲液体系	转膜缓冲液体系	最佳分离范围
P0535/P0536	7%	10/15	60/30μl	Tris-Acetate SDS or Tris-Glycine	Tris-Glycine	40-500kD
P0538/P0539	3-8%	10/15	60/30μl	Tris-Acetate SDS or Tris-Glycine	Tris-Glycine	40-500kD

- 本预制胶含有1.5厘米高的4%浓缩胶, 可以有效确保获得非常锐利的条带。
- 本预制胶丙烯酰胺(Acrylamide)与甲叉丙烯酰胺(Bisacrylamide)的比例为29:1, 凝胶厚度为1.5mm。加样孔数为10孔的最大上样量为60μl, 加样孔数为15孔的最大上样量为30μl。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。
- 聚丙烯酰胺凝胶电泳(Polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE)技术广泛用于蛋白质、核酸及蛋白质-核酸复合物的分离纯化、检测、鉴定、分子量分析等实验, 是生命科学中最基本的实验技术之一。常见的Western印迹(Western blot)检测就是基于PAGE的。Glycine-SDS-PAGE (也被称为Laemmli-SDS-PAGE, 基于Tris-Glycine缓冲系统)和Tricine-SDS-PAGE (基于Tris-Tricine缓冲系统)是广泛应用的将蛋白质按照分子量大小分离的方法[1]。Tricine-SDS-PAGE可以很好地分离小于30kDa的蛋白质, 而Glycine-SDS-PAGE被建议用于大于30kDa的蛋白。不同体系分离蛋白质的特性与Glycine和Tricine的pKa值有关, 不同大小的蛋白质在不同的缓冲体系中拥有不同的电泳迁移率, 且特定范围内的蛋白质分辨率较高。因此, 如果需要分离大分子量蛋白, 就需要选择合适的电泳系统[2]。同时, 也建议使用由下至上丙烯酰胺浓度降低的梯度胶[3]。目前研究中常用Tris-Acetate凝胶系统分离大分子量蛋白。在Tris-Acetate凝胶系统中, Acetate(-)来自凝胶缓冲液, 相较于系统中其它的阴离子, Acetate(-)对阳极具有极高的亲和力, 因此可作为前导离子(Leading ion)。凝胶缓冲液中含有Tris(+)和Acetate(-), pH为7.0, 使凝胶具有很高的分辨率。电泳缓冲液中含Tris(+), Tricine(-)和十二烷基硫酸盐(Dodecylsulfate, DS), 其中Tricine(-)作为尾随离子(Tailing ion)。电泳缓冲液pH为8.24, 减少了蛋白修饰, 使条带更锐利。对高分子量蛋白进行分离的结果也表明, Tris-Acetate凝胶分离效果好、转移效率高、灵敏度高、分辨率佳。此外, Tris-Acetate凝胶也被报道可以作为一种稳定的、经济高效的研究蛋白质寡聚化的工具, 仅使用单一凝胶即可提供出色的蛋白质寡聚化结果[4]。
- 碧云天的BeyoGel™大分子量蛋白预制胶(Tris-Acetate)使用中性pH的Tris-Acetate缓冲液制备, 不含SDS, 既可用于变性蛋白电泳, 也可用于非变性蛋白电泳。
- 推荐使用碧云天专门为本预制胶研制的配套电泳液, 或参考使用说明自行配制相应的电泳液。对于变性蛋白电泳, 推荐使用BeyoGel™ Tris-Acetate SDS Running Buffer (20X) (P0749); 对于非变性蛋白电泳, 推荐使用非变性PAGE电泳液(Tris-Gly, Powder) (P0014F/P0014G)。
- 本预制胶电泳后可以使用Tris-Glycine缓冲系统的转膜液进行转膜, 但需降低转膜液中乙醇或甲醇浓度(至5%), 推荐使用Western转膜液(P0021A或P0021B)。
- 关于10孔和15孔预制胶的选择: 需要检测的样品数量多或者需要定量时, 推荐使用15孔预制胶, 通量更大、更便于进行较多样品的定量统计分析; 需要获得非常漂亮的代表性图片时, 推荐使用10孔预制胶, 10孔预制胶获得的条带更加平整和锐利。
- 本产品使用安全、便捷。本预制胶无需配制, 即开即用, 去掉梳子即可上样, 而传统的PAGE配制凝胶繁琐费时, 并且制胶时还会接触有毒和刺激性试剂。

- **本产品质量稳定。**本预制胶采用高品质玻璃胶板，和塑料胶板相比，大大减少了胶板对蛋白的吸附，电泳效果更好。本产品流水线灌注，品质稳定可靠，重复性好，不同批次的产品一致性高。
- **本产品电泳效果好。**本预制胶的蛋白质分离效果极佳，蛋白条带平整、清晰、细腻、锐利，转膜效率高。
- **本产品电泳槽兼容性好。**本预制胶兼容市场上主流的小型电泳槽，如碧云天的MiniProGel™蛋白制胶与电泳系统(E6001/E6005)、Bio-Rad公司的Mini-PROTEAN® Tetra Cell电泳槽、Life公司的XCell SureLock® Mini-Cell电泳槽(需与碧云天可免费提供的特制挡板配合使用)、以及上海天能、北京六一等的mini胶电泳槽或其它胶板宽度在10厘米的电泳槽。
- **本产品电泳时间短。**本预制胶推荐的变性电泳电压和电泳时间为150V 50-70分钟;非变性电泳电压和电泳时间为150V 90-180分钟。完成电泳后可获得非常平整和锐利的电泳条带。具体的电泳时间可以根据溴酚蓝的电泳位置或实验的具体需求进行确定。
- **本产品取出凝胶极为便捷。**只需用刀片在玻璃胶板一侧轻轻划一下即可，并且玻璃胶板打开极为方便，无需特殊的撬撬工具。
- 本预制胶属于特殊用途预制胶。碧云天的特殊用途预制胶的比较和选择可以参考碧云天的相关网页：
<http://www.beyotime.com/support/special-precaster-gel.htm>。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
P0535S	BeyoGel™大分子量蛋白预制胶(Tris-Acetate, 7%, 10孔)	10块
—	说明书	1份

保存条件：

4°C保存，1-2个月有效。切勿置于0°C以下冷冻。

注意事项：

- 由于本预制胶保质期较短，需新鲜制备，在您确认订购后约3-5个工作日才能发货。
- 本预制胶不能置于0°C以下冷冻，否则凝胶会冻裂。
- 内槽电泳液和转膜液建议新鲜配制，试剂纯度不够、反复使用或长期放置的缓冲液会降低电泳效果。
- 本预制胶为了兼容几乎所有厂家的小型凝胶电泳槽，所以改进了与电泳槽U型硅橡胶密封条的吻合结构(如碧云天、Bio-Rad等公司的电泳槽)。建议在电泳时须将具有突起结构的U型硅橡胶密封条取出后反过来安装，使其没有突起的平滑面朝外，从而防止漏液，见下图。一般内槽电泳液加满，外槽电泳液没过电泳槽底部的阳极即可，并且电泳结束后的电泳缓冲液可以作为外槽缓冲液重复使用1-2次。另外，部分公司都已经配套无突起结构的U型硅橡胶密封条，使用这样的U型硅橡胶密封条就不会出现内外槽之间的漏液现象。

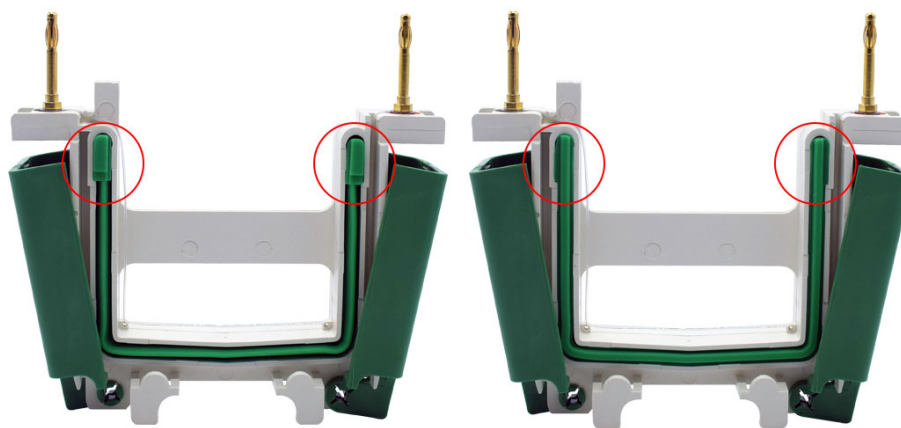


图1. 碧云天、Bio-Rad等公司的电泳槽U型硅橡胶密封条的突起结构图。由于碧云天的BeyoGel™ PAGE预制胶的该部位是平的，使其兼容几乎所有厂家的小型胶电泳槽，所以电泳时须将具有突起结构的硅橡胶密封条(左图)取出后反过来安装(右图)，使其没有突起的平滑面朝外，从而防止漏液。

- 由于碧云天的BeyoGel™ PAGE预制胶比Life公司的XCell SureLock® Mini-Cell电泳槽配套的NuPAGE® Gel或Novex® Mini Gel略薄，所以需加特制挡板配合使用。如有需要，请在订购本产品时告知，碧云天会免费赠送该特制挡板。
- 电泳结束后可使用Tris-Glycine缓冲系统的转膜液进行转膜。乙醇或甲醇会使大分子蛋白很容易沉淀。可通过减少转膜液中的乙醇或甲醇百分比(至5%)来避免这种情况发生。为了进一步确保蛋白质不会沉淀，可添加SDS至终浓度为0.1%。SDS向蛋白添加均匀的负电荷，使得它们更容易从凝胶转移到膜上。
- 转膜时，推荐使用0.45μm的PVDF膜(FFP19/FFP20/FFP22)。
- 本产品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。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 样品准备：

- 变性电泳：根据实验需求按照下表配制上样体系，70°C加热10分钟，以充分变性蛋白。

Reagent	Reduced Sample	Non-reduced Sample
Sample	x μ l	x μ l
BeyoGel™ LDS Sample Buffer (4X) (P0731)	2.5 μ l	2.5 μ l
BeyoGel™ Sample Reducing Agent (10X) (P0733)	1 μ l	-
ddH ₂ O	(6.5-x) μ l	(7.5-x) μ l
Total Volume	10μl	10μl

- b. 非变性电泳：将样品和非变性非还原性蛋白上样缓冲液(5X) (P0016N)按4:1混合，例如8 μ l样品和2 μ l上样缓冲液(5X)。无须加热变性。
- 将BeyoGel™大分子量蛋白预制胶(Tris-Acetate)从包装袋中取出。
 - 将预制胶固定在电泳槽中，平稳、缓慢地拔出梳子。
 - 配制电泳缓冲液。对于变性蛋白电泳，推荐使用BeyoGel™ Tris-Acetate SDS Running Buffer (20X) (P0749)；对于非变性蛋白电泳，推荐使用非变性PAGE电泳液(Tris-Gly, Powder) (P0014F/P0014G)。
 - 变性蛋白电泳缓冲液(Tris-Acetate SDS Running Buffer) (1X)**：50mM Tricine, 50mM Tris Base, 0.1% SDS, pH8.2-8.3。
 - 非变性蛋白电泳缓冲液(Tris-Glycine Native Running Buffer) (1X)**：25mM Tris Base, 192mM Glycine, pH8.3。
 - 内槽加满电泳液，外槽加入电泳液没过电泳槽底部的阳极即可。电泳槽推荐使用碧云天的MiniProGel™蛋白制胶与电泳系统(E6001/E6005)。

注：由于预制胶孔中有残留的储存缓冲液，所以建议用1毫升移液枪吸取电泳液轻轻吹打加样孔，将加样孔冲洗干净，去除气泡和残留的储存缓冲液，这样电泳的效果更佳。
 - 上样：将10微升吸头或BeyoGold™凝胶电泳上样吸头(FTIP205/FTIP206)的尖端垂直方向轻轻插入到上样孔中即可上样，枪头避免戳破凝胶，更不能使胶板变形导致样品泄漏。推荐使用碧云天大分子量的BeyoColor™彩色预染蛋白分子量标准(25-300kD) (P0779)。

注：最佳上样量须通过实验来确定，样品过量较易导致条带拖尾和信号过强。
 - 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)。进行变性电泳时，一般在150V电压，电泳50-70分钟左右即可；进行非变性电泳时，一般在150V电压，电泳90-180分钟左右即可。当溴酚蓝条带电泳至凝胶近底部或实验预定的位置即停止电泳。如果需获得更加平整和锐利的条带，可以把电压调整为100-150V，此时电泳时间需要适当延长。实际电泳时间与电泳液质量、凝胶数量等因素有关系，需自行适当调整。电泳电源推荐使用碧云天的BeyoPower™中电流电源(300V/600mA/100W) (E6080)或BeyoPower™高电流电源(300V/2000mA/200W) (E6085)。
 - 取出玻璃胶板，将刀片从玻璃胶板一侧轻轻划一下，稍加用力慢慢扳开或用刮板轻轻撬开玻璃胶板，用刮板将凝胶取出。
 - 转膜：电泳结束后可使用Tris-Glycine缓冲系统的Western转膜液(P0021A或P0021B)、BeyoGel™ Transfer Buffer (for Bis-Tris Gels) (P0753/P0755)、或其它转膜液(如：25mM Bicine, 25mM Bis-Tris (free base), 1mM EDTA, pH7.2)进行转膜。转膜电源推荐使用碧云天的BeyoPower™高电流电源(300V/2000mA/200W) (E6085)，转膜推荐使用碧云天的MiniBlot™蛋白转膜系统(E6050)或MiniBlot™蛋白转膜转移芯(E6053)。详细的Western操作可以参考碧云天的相关网页：<http://www.beyotime.com/support/western.htm>。

注1：乙醇或甲醇会使大分子蛋白很容易沉淀。可通过减少转膜液中的乙醇或甲醇百分比(至5%)来避免这种情况发生。为了进一步确保蛋白质不会沉淀，可添加SDS至终浓度为0.1%。SDS向蛋白添加均匀的负电荷，使得它们更容易从凝胶转移到膜上。

注2：通常湿转时120V恒定电压转膜60-90分钟，为达到更好的转膜效果，可以根据预制胶上残留的预染marker及印迹膜上的预染marker确定转膜效率，并对转膜条件进行适当调整。

常见问题：

- 蛋白电泳示踪染料溴酚蓝扭曲、电泳大幅扭曲、电泳时间大幅度延长：

可能原因是内槽缓冲液泄漏而导致。建议重新夹一下胶板，防止在电泳过程中内槽液面逐步降低。
- 使用自己配制的电泳缓冲液与上样缓冲液电泳后条带较模糊：

本预制胶pH为中性，对电泳缓冲液和上样缓冲液的要求比传统pH8.8的分离胶要高，缓冲液配制不当，或长期放置变质，都会对本预制胶的蛋白电泳效果产生影响。对于变性蛋白电泳，推荐使用BeyoGel™ Tris-Acetate SDS Running Buffer (20X) (P0749)；对于非变性蛋白电泳，推荐使用非变性PAGE电泳液(Tris-Gly, Powder) (P0014F/P0014G)。
- 在上样时不可将枪头过度插入上样孔中，枪头的过度插入会使胶板变形，导致样品泄漏。

参考文献：

- Maizel JV. Trends Biochem Sci. 2000. 25(12):590-2.
- Schägger H. Nat Protoc. 2006. 1(1):16-22.
- Casas-Terradellas E, Garcia-Gonzalo FR, Hadjebi O, Bartrons R, Ventura F, Rosa JL. Electrophoresis. 2006. 27(20):3935-8.
- Cubillos-Rojas M, Schneider T, Sánchez-Tena S, Bartrons R, Ventura F, Rosa JL. Anal Bioanal Chem. 2016. 408(6):1715-9.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
P0532S	BeyoGel™小分子量蛋白预制胶(Tricine, 16.5%, 10孔)	10块
P0533S	BeyoGel™小分子量蛋白预制胶(Tricine, 16.5%, 15孔)	10块
P0535S	BeyoGel™大分子量蛋白预制胶(Tris-Acetate, 7%, 10孔)	10块
P0536S	BeyoGel™大分子量蛋白预制胶(Tris-Acetate, 7%, 15孔)	10块
P0538S	BeyoGel™大分子量蛋白预制胶(Tris-Acetate, 3-8%, 10孔)	10块
P0539S	BeyoGel™大分子量蛋白预制胶(Tris-Acetate, 3-8%, 15孔)	10块
P0750-2ml	BeyoGel™ Tricine SDS Sample Buffer (2X)	2ml
P0750-10ml	BeyoGel™ Tricine SDS Sample Buffer (2X)	10ml
P0751-100ml	BeyoGel™ Tricine-SDS Cathode Running Buffer (10X)	100ml
P0751-500ml	BeyoGel™ Tricine-SDS Cathode Running Buffer (10X)	500ml
P0752-100ml	BeyoGel™ Tricine-SDS Anode Running Buffer (10X)	100ml
P0752-500ml	BeyoGel™ Tricine-SDS Anode Running Buffer (10X)	500ml
P0771S	BeyoColor™彩色预染蛋白分子量标准(2.7-40kD)	200µl
P0771M	BeyoColor™彩色预染蛋白分子量标准(2.7-40kD)	600µl
ST760-100g	Tris (Electrophoresis Grade)	100g
ST760-500g	Tris (Electrophoresis Grade)	500g
ST760-2.5kg	Tris (Electrophoresis Grade)	2.5kg
ST761-100g	Tris (Molecular Biology Grade)	100g
ST761-500g	Tris (Molecular Biology Grade)	500g
ST761-2.5kg	Tris (Molecular Biology Grade)	2.5kg
ST756-20g	Tricine (Cell Culture Grade)	20g
ST756-100g	Tricine (Cell Culture Grade)	100g
ST626	SDS	80g
ST627	SDS	80g
P0021A	Western转膜液	1L
P0021B	Western转膜液	10×1L
E6001	MiniProGel™蛋白制胶与电泳系统(4胶)	1套
E6005	MiniProGel™蛋白制胶与电泳系统(2胶)	1套
E6080	BeyoPower™中电流电源(300V/600mA/100W)	1套
E6085	BeyoPower™高电流电源(300V/2000mA/200W)	1套
FTIP205-10bags	BeyoGold™凝胶电泳上样吸头(1-200µl, 袋装)	1000个/袋,10袋/箱
FTIP205-1bag	BeyoGold™凝胶电泳上样吸头(1-200µl, 袋装)	1000支/袋
FTIP206-12bxs	BeyoGold™凝胶电泳上样吸头(1-200µl, 盒装)	96支/盒, 12盒/箱
FTIP206-1box	BeyoGold™凝胶电泳上样吸头(1-200µl, 盒装)	96支/盒, 1盒

Version 2024.01.11