



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
订货热线: 400-1683301或800-8283301
订货e-mail: order@beyotime.com
技术咨询: info@beyotime.com
网址: http://www.beyotime.com

BeyoGel™ Blue Native PAGE预制胶(4-13%, 10孔)

产品编号	产品名称	包装
P0545S	BeyoGel™ Blue Native PAGE预制胶(4-13%, 10孔)	10块

产品简介:

- 碧云天的BeyoGel™ Blue Native PAGE预制胶(BeyoGel™ Blue Native Precast PAGE Gel)是一种使用安全、便捷、高品质的常规尺寸聚丙烯酰胺预制凝胶, 主要用于分离细胞膜、胞浆等生物样品中10kDa-10,000kDa的生物膜蛋白及蛋白质复合物。Blue Native PAGE是以考马斯亮蓝G-250代替SDS使蛋白质复合物带上负电荷, 并根据各个不同复合物的分子量差异从而在胶中得到分离, 同时这些复合物在胶中以蓝色条带形式呈现。另外, 在样品制备过程中使用一些温和的非离子型去垢剂进行溶解, 从而使复合物以近似天然的状态分离。本预制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Blue Native PAGE胶的电泳效果。
- 碧云天的BeyoGel™ Blue Native PAGE预制胶有10孔和15孔两种孔数可供选择。本预制胶为梯度胶, 浓度为4-13%。如果有较大量的特殊浓度需求, 碧云天可提供定制服务。本产品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	最佳分离范围
P0545/P0546	4-13%	10/15	60/30μl	Tricine-Imidazole	60kDa-700kDa

- 本预制胶聚丙烯酰胺(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, 是生命科学研究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。
- Blue Native PAGE (简称BN-PAGE)是Hermann Schägger等人于1991年建立的蛋白电泳技术, 该电泳技术的用途有: 从生物膜、细胞以及组织匀浆中分离微量膜蛋白复合物; 线粒体病的临床诊断; 确定蛋白质分子量和低聚物状态; 通过基于抗体的凝胶位移法(Gel-shift method)测定多蛋白复合物的化学计量比(Stoichiometry); 分析蛋白质-蛋白质相互作用; 用于2D结晶(2D-Crystallization)和电子显微镜检测; 凝胶内活性检测(In-gel activity assay); 非变性电印迹和免疫检测; 用于神经递质组装、蛋白质输入和凋亡的研究; 分离超分子蛋白复合体等[1]。
- 在Blue Native PAGE中, 生物膜样品使用一些温和的非离子去垢剂溶解, 从而使复合物以近似天然的状态分离。特定的非离子去垢剂的选择取决于相关蛋白质复合物对去垢剂的稳定性, 常用的去垢剂有洋地黄皂苷(Digitonin) (ST1272) [2]、十二烷基麦芽糖苷(Dodecylmaltoside, DDM)、Triton X-100 (ST795) [3]等。生物膜溶解和离心后, 将阴离子染料考马斯亮蓝G-250加入到上清液中。G-250易溶于水, 但由于其疏水性, 也可以与蛋白质复合物相结合。BN-PAGE以考马斯亮蓝G-250代替SDS使蛋白质复合物带负电荷, 由于带负电的蛋白相互排斥, 蛋白质复合物聚集的可能性也大大降低。此外, 与染料结合后蛋白质复合物失去疏水性, 转化为水溶性。这意味着一旦G-250占据蛋白表面, BN凝胶中就无需添加SDS等去垢剂, 因此, BN-PAGE中, 对去垢剂敏感的蛋白变性的风险大大降低。最终, 蛋白质复合物根据分子量的不同从而在胶中得到分离, 在胶中以蓝色条带等形式呈现。若需要进一步分析复合物各个亚基的成分, 还可以采用BN-PAGE结合SDS-PAGE的方式[1]。
- 碧云天的BeyoGel™ Blue Native PAGE预制胶(4-13%)使用中性的咪唑(Imidazole)缓冲液制备, 不含SDS。
- 推荐使用碧云天专门为本预制胶研制的配套电泳液, BeyoGel™ Blue Native PAGE阴极电泳缓冲液I (P0765)、BeyoGel™ Blue Native PAGE阴极电泳缓冲液II (P0767)和BeyoGel™ Blue Native PAGE阳极电泳缓冲液(P0769), 或参考使用说明自行配制相应的电泳液。
- 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BN-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-precast-page-gel.htm>。
- 碧云天同时提供Blue Native PAGE凝胶配制试剂盒(P0543)。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
P0545S	BeyoGel™ Blue Native PAGE预制胶(4-13%, 10孔)	10块
—	说明书	1份

保存条件：

4℃保存，2个月有效。切勿置于0℃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。
- 虽然4-13%的本梯度预制胶可覆盖的蛋白质分子量范围为10kDa-10,000kDa，但小于100kDa或大于700kDa的蛋白质可能不能很好地被分离[1]。如果需要检测这两类蛋白，需要进行一定的条件摸索，特别是对于60kDa以下的蛋白，应根据情况及时停止电泳，避免小分子量蛋白跑出凝胶。
- 本预制胶不能置于0℃以下冷冻，否则凝胶会冻裂。
- 样品处理为BN-PAGE的关键，去污剂的浓度以及去污剂和蛋白的比例非常重要，需进行预实验摸索适合的条件。
- 样品上样量不宜过大，样品过多会导致样品沉积于上样孔中不能电泳至凝胶中，上样量需根据上样孔的大小以及胶的厚度决定。每个孔上样的样品体积不宜超过上样孔容积的4/5，所以必须控制样品的浓度，浓度太低需浓缩。一般10孔预制胶的上样量需小于48μl，15孔预制胶的上样量需小于24μl。
- 样品的盐离子浓度需要非常低，否则会导致样品在上样孔沉积。如盐离子浓度很高，首先须脱盐。
- 与样品有关的所有操作必须在冰上进行，以保证蛋白复合物的完整性。
- 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。
- 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：**可参考NATURE PROTOCOLS的“Blue native PAGE” [1]。上样缓冲液推荐使用碧云天的BeyoGel™ Blue Native PAGE Sample Buffer (2X) (P0761)。注意：由于是非变性电泳，样品无须加热变性。
2. **预制胶、电泳液的准备：**

- a. 将BeyoGel™ Blue Native PAGE预制胶从包装袋中取出。
- b. 将预制胶固定在电泳槽中，平稳、缓慢地拔出梳子。
- c. 请按下表配制电泳缓冲液。推荐使用碧云天BeyoGel™ Blue Native PAGE阴极电泳缓冲液I (5X) (P0765)、BeyoGel™ Blue Native PAGE阴极电泳缓冲液II (5X) (P0767)和BeyoGel™ Blue Native PAGE阳极电泳缓冲液(5X) (P0769)。阴极电泳缓冲液I (Cathode Buffer I)、阴极电泳缓冲液II (Cathode Buffer II)和阳极电泳缓冲液(Anode Buffer)的配方见下表。

Components	Cathode Buffer I	Cathode Buffer II	Anode Buffer
Tricine (mM)	50	50	-
Imidazole (mM)	7.5	7.5	25
Coomassie Blue G-250 (%)	0.02	0.002	-

注1：阴极电泳缓冲液I和阴极电泳缓冲液II呈中性，无需调节pH值；Anode Buffer需用HCl调节pH至7.0。

注2：阴极电泳缓冲液I中的高浓度Coomassie Blue G-250可能会聚集，建议室温保存，并在使用前搅拌均匀。

- d. 内槽加满阴极电泳缓冲液I，外槽加入阳极电泳缓冲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毫升移液枪吸取阴极电泳缓冲液I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。

3. **上样：**将10微升吸头或BeyoGold™凝胶电泳上样吸头(FTIP205/FTIP206/FTIP208/FTIP209)的尖端垂直方向轻轻插入到上样孔中即可上样，吸头避免戳破凝胶，更不能使胶板变形导致样品泄漏。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。

4. **电泳：**

- a. 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)。
- b. 以恒压100V开始电泳。
- c. 待样品跑过1-1.5cm后，调整电压至250V，之后可以慢慢增加电压但需要控制电流在50mA以内，直至溴酚蓝条带电泳至凝胶近底部或实验预定的位置。
- d. 待样品电泳至分离胶凝胶预计电泳长度的约1/3处时，请更换内槽阴极电泳缓冲液I为阴极电泳缓冲液II，以更好地检测微弱的蛋白条带并有更好的转膜效果。

注1：电泳过程尽量在4-7℃环境中或在冰上进行，以保证蛋白质复合物的完整性。

注2：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)。

5. 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。
6. 电泳结束后，对凝胶进行考染、银染、转膜(该过程与普通的SDS-PAGE相同)。如无需分析复合物各亚基的组分，可以直接切割感兴趣的条带进行质谱检测。如需分析复合物各个亚基的组成，可二维电泳(Two-dimensional blue native PAGE)后寻找差异点进行质谱分析，或者直接进行基于质谱的蛋白质组分析。具体请参考NATURE PROTOCOLS的“Blue native PAGE” [1]。

常见问题：

1. 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。
2. 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为近中性，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。推荐使用碧云天BeyoGel™ Blue Native PAGE阴极电泳缓冲液I (5X) (P0765)、BeyoGel™ Blue Native PAGE阴极电泳缓冲液II (5X) (P0767)和BeyoGel™ Blue Native PAGE阳极电泳缓冲液(5X) (P0769)。
3. 在上样时不可将吸头过度插入上样孔中，吸头的过度插入会使胶板变形，导致样品泄漏。
4. 本产品电泳时需控制电流小于50mA以内。随着时间增加电流会逐步降低。如果电流明显不在这一范围，需检查电泳液的质量，及内槽电泳液是否有漏液现象。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)。
注：实际电流与电泳电源、电泳液质量、凝胶数量等因素有关。

参考文献：

1. Wittig I, Braun HP, Schägger H. Nat Protoc. 2006. 1(1):418-28.
2. Cogliati S, Herranz F, Ruiz-Cabello J, Enríquez JA. Biochim Biophys Acta Bioenerg. 2021. 1862(1):148332.
3. Schägger H, Pfeiffer K. EMBO J. 2000. 19(8):1777-83.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
P0543S	Blue Native PAGE凝胶配制试剂盒	30-50gels
P0545S	BeyoGel™ Blue Native PAGE预制胶(4-13%, 10孔)	10块
P0546S	BeyoGel™ Blue Native PAGE预制胶(4-13%, 15孔)	10块
P0761S	BeyoGel™ Blue Native PAGE Sample Buffer (2X)	1ml

P0761M	BeyoGel™ Blue Native PAGE Sample Buffer (2X)	5ml
P0765S	BeyoGel™ Blue Native PAGE阴极电泳缓冲液I (5X)	500ml
P0767S	BeyoGel™ Blue Native PAGE阴极电泳缓冲液II (5X)	500ml
P0769S	BeyoGel™ Blue Native PAGE阳极电泳缓冲液(5X)	500ml
P0017	考马斯亮蓝快速染色液	250ml
P0017A	考马斯亮蓝染色试剂盒(常规法)	1盒
P0017F	BeyoBlue™考马斯亮蓝超快染色液	250ml
P0017S	快速银染试剂盒	25次
ST1119-1g	考马斯亮蓝G250 (Reagent grade)	1g
ST1119-5g	考马斯亮蓝G250 (Reagent grade)	5g
ST1119-25g	考马斯亮蓝G250 (Reagent grade)	25g
ST1123-1g	考马斯亮蓝R250 (Reagent grade)	1g
ST1123-5g	考马斯亮蓝R250 (Reagent grade)	5g
ST1123-25g	考马斯亮蓝R250 (Reagent grade)	25g
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 2024.09.24