ExpressPlus™ 10×8 预制胶

技术手册No. TM0645 **版本: 0225016**

Ⅰ	简介	1
Ⅱ	凝胶选择指导	2
Ⅲ	兼容的电泳槽	3
Ⅳ	预制胶使用简介	4
Ⅴ	凝胶染色	10
Ⅵ	蛋白转印	11
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™预制胶是一款高性能的小型聚丙烯酰胺凝胶，能满足客户上样量大的需求。其独特的胶板设计可以提高条带分辨率，改善样品在上样孔里的分布状态，使得条带更加均匀。该预制胶为Bis-Tris凝胶缓冲系统，比常规的Tris-Glycine系统具有更强的缓冲能力，于pH6.4的弱酸性条件下灌注，能够更好地减少聚丙烯酰胺的降解，提高凝胶稳定性。

ExpressPlus™预制胶不含有SDS，依赖于采用合适的电泳缓冲液和相应试剂，是SDS-PAGE和非变性凝胶电泳的理想材料。依赖特有的灌注技术可以保证预制胶批次间稳定性和条带分布一致性。ExpressPlus™预制胶配套使用Tris-MOPS或Tris-MES电泳缓冲液，能够实现高效、可靠地分离蛋白质，便于后续染色或转膜检测。

ExpressPlus™预制胶提供不同浓度的梯度胶和固定浓度胶。梯度胶的浓度包括4-20%、4-12%和8-16%；固定浓度胶包括8%、10%和12%。每种浓度的预制胶都有10个点样孔、12个点样孔和15个点样孔三种规格。胶板尺寸：长×宽×高为100 × 80 ×4.7 mm；凝胶尺寸：长×宽×厚为80×70×1 mm。

主要特点:

- **上样量大** — 最大上样量可达80 µl，高于其他公司同类产品
- **简单易用** — 特殊上样口设计，使用普通10 µl移液枪头快速上样
- **高分辨率** — 蛋白条带分离更为清晰和均一
- **超长保质期** —2-8℃可保存12个月
- **兼容性胶板设计** — 适合大多数小型电泳槽
- **重复性高** —不同批次预制胶的一致性好
- **物美价廉** — 节约实验成本

江苏省南京市江宁科学园雍熙路28号
电话：400-025-8686-5810 025-58897288-5810 电子邮箱：product@genscript.com.cn 网址：www.genscript.com.cn

II. 凝胶选择指导手册

表1. 凝胶选择指导

产品编号	丙烯酰胺浓度	孔数	上样孔体积	电泳缓冲液	转移缓冲液	分离范围
M00810C	8%	10	80 µl	MOPS, MES	Tris-Bicine	180-20 kDa
M01010C	10%	10	80 µl	MOPS, MES	Tris-Bicine	160-20 kDa
M01210C	12%	10	80 µl	MOPS, MES	Tris-Bicine	120-6.5 kDa
M42010C	4-20%	10	80 µl	MOPS, MES	Tris-Bicine	250-10 kDa
M81610C	8-16%	10	80 µl	MOPS, MES	Tris-Bicine	160-10 kDa
M41210C	4-12%	10	80 µl	MOPS, MES	Tris-Bicine	250-20 kDa
M00812C	8%	12	60 µl	MOPS, MES	Tris-Bicine	180-20 kDa
M01012C	10%	12	60 µl	MOPS, MES	Tris-Bicine	160-20 kDa
M01212C	12%	12	60 µl	MOPS, MES	Tris-Bicine	120-6.5 kDa
M42012C	4-20%	12	60 µl	MOPS, MES	Tris-Bicine	250-10 kDa
M81612C	8-16%	12	60 µl	MOPS, MES	Tris-Bicine	160-10 kDa
M41212C	4-12%	12	60 µl	MOPS, MES	Tris-Bicine	250-20 kDa
M00815C	8%	15	40 µl	MOPS, MES	Tris-Bicine	180-20 kDa
M01115C	10%	15	40 µl	MOPS, MES	Tris-Bicine	160-20 kDa
M01215C	12%	15	40 µl	MOPS, MES	Tris-Bicine	120-6.5 kDa
M42015C	4-20%	15	40 µl	MOPS, MES	Tris-Bicine	250-10 kDa
M81615C	8-16%	15	40 µl	MOPS, MES	Tris-Bicine	160-10 kDa
M41215C	4-12%	15	40 µl	MOPS, MES	Tris-Bicine	250-20 kDa

江苏省南京市江宁科学园雍熙路28号
电话：400-025-8686-5810 025-58897288-5810 电子邮箱：product@genscript.com.cn 网址：www.genscript.com.cn

下图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2. 蛋白电泳迁移表



III. 可兼容电泳槽

ExpressPlus™预制胶可兼容以下电泳槽：

- Bio-Rad Mini-PROTEAN® II & 3
- Bio-Rad Mini-PROTEAN ® Tetra System
- LONZA PAGEr® Minigel Chamber
- Hoefer Mighty Small (SE 260/SE 250)

IV. ExpressPlus™预制胶的使用简介

A. 电泳缓冲液和电泳槽的准备

1. 取一包电泳缓冲液粉末(MOPS Running Buffer Powder，目录号：M00138) 溶解在 1 L 的去离子水中制成 1×电泳缓冲液。
2. 将 ExpressPlus™ 预制胶从包装袋中取出，撕掉胶板底部的胶带（见图 1）。

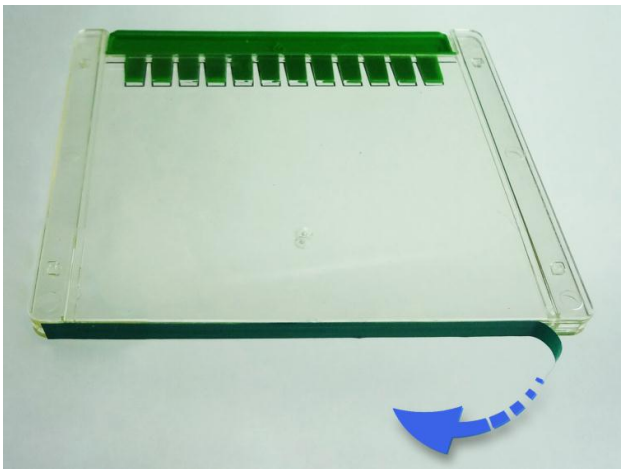


图 1. 撕下胶板底部胶带

3. 平稳地将梳子从胶板中推出（见图 2）。

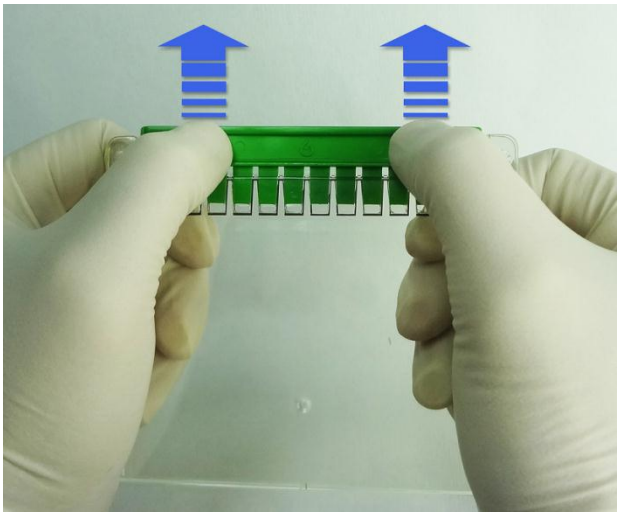


图 2. 将梳子从胶板中推出

4. 将胶板放入凝胶电泳装置中。
   请参阅电泳装置制造商的使用说明。

江苏省南京市江宁科学园雍熙路28号
电话：400-025-8686-5810 025-58897288-5810 电子邮箱：product@genscript.com.cn 网址：www.genscript.com.cn

Bio-Rad Mini-PROTEAN® Tetra System电泳槽的使用注意事项: 将电泳槽内框架的绿色硅橡胶密封条取出，然后将其平坦的一面朝外并重新插回内框架的凹槽中（见图3）。

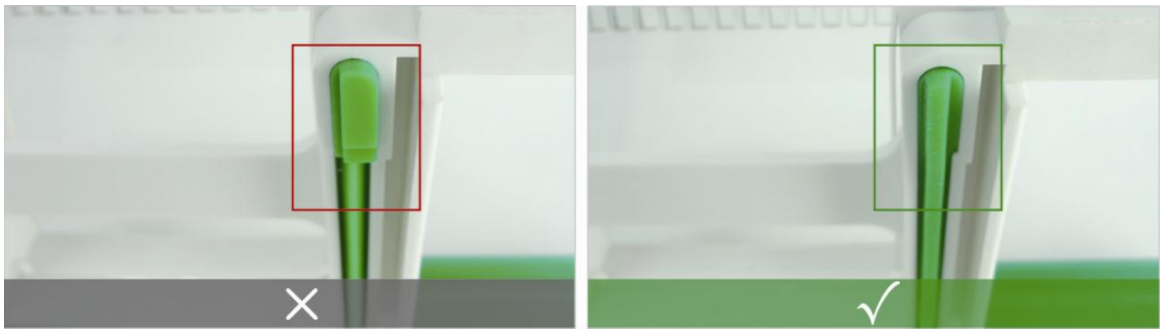


图3. ExpressPlus™ 预制胶在Bio-Rad Mini-PROTEAN® Tetra System电泳槽中的使用

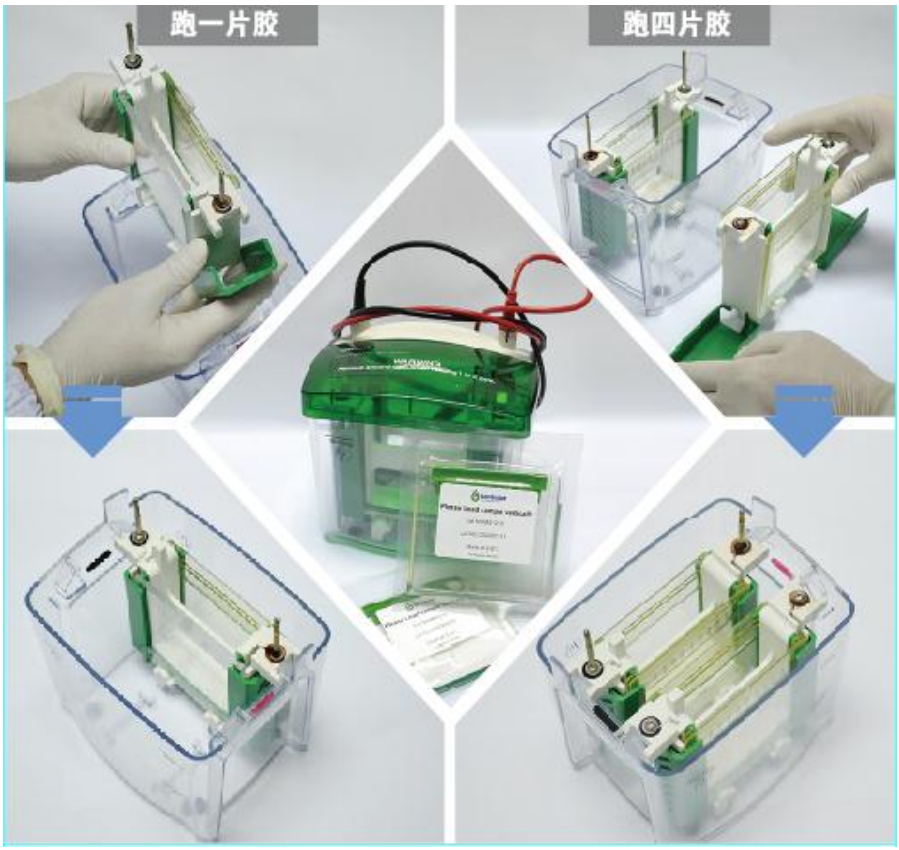


图 4. ExpressPlus™ 预制胶在 Bio-Rad 电泳槽的使用

5. 在电泳槽的内槽中倒入足够的 1× MOPS 或 MES 电泳缓冲液使其覆盖上样孔 5-7 mm，在外槽中加入相同的电泳缓冲液以确保适当的冷却。为了获得最好的效果，外槽的缓冲液需要加到与内槽持平的位置或稍低，但不可漫过胶板（**注意：1. 相对于 MOPS 电泳缓冲液来说，MES 更适合用于小蛋白的分离；2.Tris-Glycine 电泳缓冲液与 ExpressPlus™ 预制胶的 Bis-Tris 缓冲系统不兼容，请不要使用。**）
6. 使用注射器或其他工具吸取适量 1×的电泳缓冲液，将上样孔轻轻冲洗干净，去除气泡和残留的储存缓冲液。

B. 样品的制备

1. SDS-PAGE凝胶电泳

5x Loading 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	60.6 g
MES	97.6 g
SDS	10 g
EDTA	3 g
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	60.6 g
MOPS	104.6 g
SDS	10 g
EDTA	3 g
去离子水（使用8 M NaOH或8 M HCl调pH至7.3)	加至 1000 ml

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

上样前将样品加热至100℃十分钟。

2. 非变性PAGE凝胶电泳

ExpressPlus™预制胶中不含SDS，可用于非变性电泳。蛋白质样品需使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、空间结构以及它的净电荷。ExpressPlus™预制胶为pH6.4，进行非变性电泳时需注意蛋白样品的酸碱性，同时，非变性电泳时间通常比SDS-PAGE电泳时间长。

5x sample buffer:

甘油	5.0 ml
溴酚蓝	25 mg
Tris base	150 mg
去离子水 (使用8 M NaOH或8 M HCl调pH至6.8)	加至 10 ml

1x MES 电泳缓冲液配方:

Tris base	6.06 g
MES	9.76 g
EDTA	0.3 g
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	3.0g
去离子水	加至1000 ml

注意事项：金斯瑞提供的电泳缓冲液粉末（MOPS Running Buffer Powder，目录号：M00138）含有SDS，所以**不适合**非变性电泳。

江苏省南京市江宁科学园雍熙路28号
电话：400-025-8686-5810 025-58897288-5810 电子邮箱：product@genscript.com.cn 网址：www.genscript.com.cn

样品处理

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。

3. 电泳过程

蛋白质样品上样

让上样枪头的尖端垂直插入到上样孔中能够获得最佳的上样效果，枪头不能戳破胶体，更不能使胶板变形导致样品漏孔（见图5）。

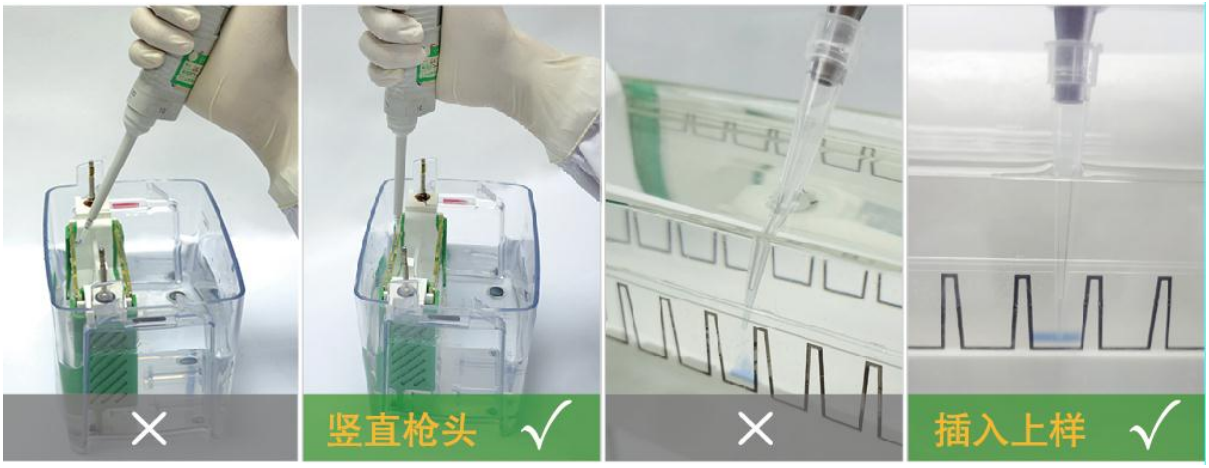


图 5. 上样方法

注意事项：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。加入过量的含自由状态碳水化合物的蛋白，可能会导致条带变形或者蛋白无法穿入胶中（见故障诊断）。

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140V电压下电泳45-55分钟直至溴酚蓝条带跑到凝胶底部（见表3）。

表3. 一块ExpressPlus™预制胶的电泳参数

电压	开始电流	结束电流	电泳时间*
140 V	75-100 mA	30-50 mA	45-55 分钟
*凝胶的电泳时间取决于实验室的温度，这些电泳时间是依据实验室中20°C的MOPS、MES缓冲液得来的			

江苏省南京市江宁科学园雍熙路28号
电话：400-025-8686-5810 025-58897288-5810 电子邮箱：product@genscript.com.cn 网址：www.genscript.com.cn

重要注意事项：

◇ 确保使用兼容的电泳槽，内外槽之间液体的泄漏会导致低迁移率（见故障诊断）。

◇ 电泳时间可能会改变，取决于电源和凝胶浓度。

4. 从胶板中取出凝胶（见图6）

a. 电泳结束后，根据电泳槽制造商的使用说明从电泳槽中取出预制胶。

b. 通过撬具或其他合适的工具小心的插入到胶板之间的空隙。

c. 用撬具慢慢地上下撬动胶板，重复上述操作，撬动上、中、下三个不同的位置，直至胶板两侧被完全分开。注意小心并最好佩戴护目镜，以免发生人身伤害。

d. 打开之后，凝胶可能粘在胶板的任意一侧，将无凝胶的胶板取下，将有凝胶的胶板上有胶一侧浸入水中贴着水面，胶板倾斜轻轻提起，凝胶掉入水中后，将凝胶从水中取出进行染色（使用后的胶板和梳子请以医疗垃圾或实验废弃物处置，不可投入生活垃圾桶中）。

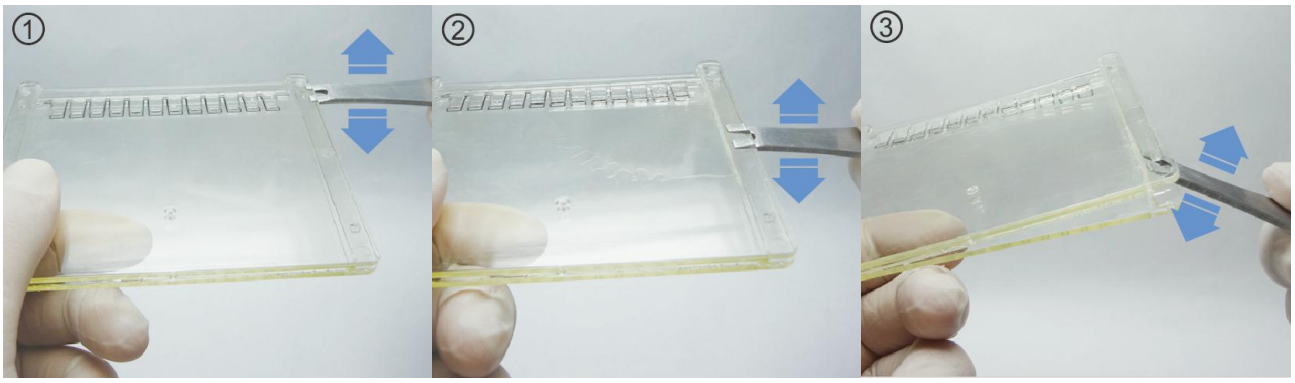


图6. 打开胶板取出凝胶

C. 储存

ExpressPlus™ 预制胶储存温度为2-25 ºC，如果2-8 ºC保存，可保存12个月。

江苏省南京市江宁科学园雍熙路28号
电话：400-025-8686-5810 025-58897288-5810 电子邮箱：product@genscript.com.cn 网址：www.genscript.com.cn

V. 凝胶染色

所有标准SDS染色流程均适用金斯瑞ExpressPlus™ 预制胶。当使用市售染色剂和设备 ,请参考说明书。

A. 考马斯亮蓝 R-250 使用微波炉染色:

1) 配制染色液 :在40%乙醇和10%醋酸溶液中溶解终浓度为0.1%(W/V)的考马斯亮蓝R-250。
2) 配制脱色液：将终浓度为10%（V/V）乙醇、7.5%（V/V）醋酸溶解在一起。
3) 电泳完成后，撬开胶板取出凝胶，然后放入装有100 ml染色液的染色容器中。
4) 盖上容器盖子并放入微波炉中用高热档位加热8分钟。为了避免危险 ,请注意不要让溶液沸腾。
5) 从微波炉中取出染色容器，放在脱色摇床上常温轻摇5分钟。
6) 倒掉染色液并用去离子水小心清洗凝胶。
7) 倒掉去离子水，并加入100 ml脱色液。
8) 盖上盖子，放入微波炉中用高热档位加热8分钟。
9) 倒掉脱色液，加入新的脱色液，重复步骤8。
10) 从微波炉中取出，放在脱色摇床上常温轻轻震荡至背景清晰。

B. 考马斯亮蓝 R-250 常规 染色:

1) 配制染色液 :在40%乙醇和10%醋酸溶液中溶解终浓度为0.1%(W/V)的考马斯亮蓝R-250。
2) 配制脱色液：将终浓度为10%（V/V）乙醇、7.5%（V/V）醋酸溶解在一起。
3) 电泳完成后，撬开胶板取出凝胶，然后放入装有100 ml染色液的染色容器中。
4) 放于摇床上轻摇1小时。
5) 倒掉染色液并用去离子水小心清洗凝胶。
6) 倒掉去离子水，并加入100 ml脱色液。
7) 放于摇床上轻摇1小时。
8) 更换新鲜脱色液，继续放于摇床上脱色1小时。
9 ） 重复步骤7、8一次。
10) 更换新鲜脱色液，放于摇床上过夜脱色至次日背景清晰。

C. eStain 染色设备 (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。

江苏省南京市江宁科学园雍熙路28号
电话：400-025-8686-5810 025-58897288-5810 电子邮箱：product@genscript.com.cn 网址：www.genscript.com.cn

VI. 蛋白转印

所有常规蛋白转移手段均适用ExpressPlus™预制胶. 使用1×转移缓冲液，湿法蛋白印迹100 V转印1-2小时，最佳的转印时间取决于蛋白分子量大小和实验优化经验。

VII. 凝胶实例

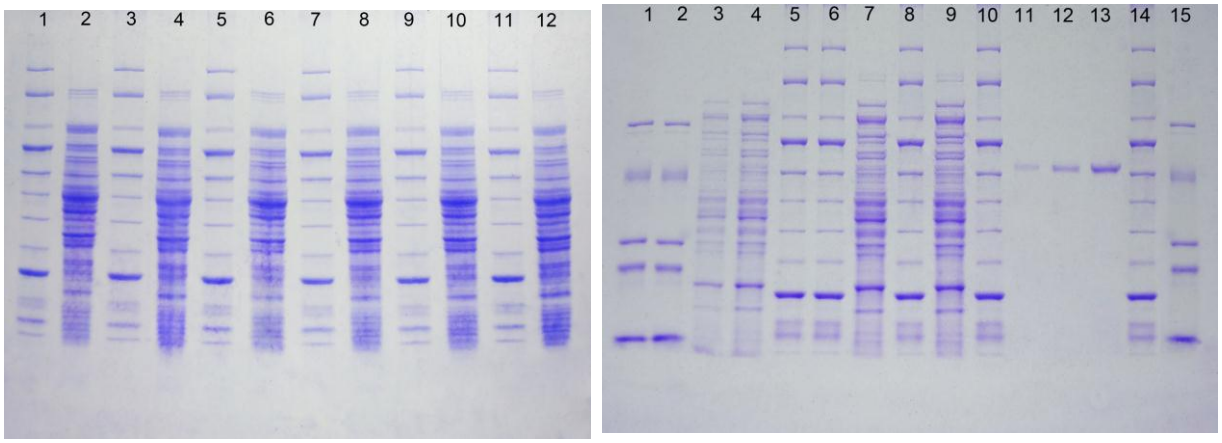


图7. 4-20% ExpressPlus™预制胶蛋白分离效果图

12孔4-20% ExpressPlus™预制胶(L)与15孔4-20% ExpressPlus™预制胶(R)蛋白分离效果图，选用eStain蛋白染色系统（R-250)进行染色。

(L):

泳道1, 3, 5, 7, 9, 11: 8 µl New England Biolabs® 10-250 KDa protein ladder (P7703S);

泳道2, 4, 6, 8, 10, 12: 7 µl *E.coli* 细胞裂解液

(R):

泳道1, 2, 15: GenScript Broad Protein Marker II (M00505);

泳道3, 4, 7, 9: 1 µl, 3 µl, 5 µl, 5 µl *E.coli* 细胞裂解液

泳道5, 6, 8, 10, 14: 6 µl New England Biolabs® 10-250 KDa protein ladder (P7703S);

泳道11, 12, 13: 150 ng, 300 ng, 600 ng BSA.

VIII. 故障诊断

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	以注射器或者其他工具用电泳缓冲液冲刷上样孔
条带拖尾	样本难溶或者含有弱电解质（如碳水化合物）	在SDS存在下加热样品，离心后取上清液上样
条带分辨率低	胶浓度错误	参照蛋白质迁移表选择合适凝胶
	上样量过载	减少上样量，单孔总蛋白量不超过50 μg
	电泳缓冲液不足，无法降温	外槽的电泳缓冲液增加至与上样孔底部大致齐平，以改善散热
样品条带在凝胶中扩散状	样品含盐类过多	采用透析或者超滤除盐
溴酚蓝前沿变黄	电泳缓冲液从变形、损坏的胶板渗入	选用合适的电泳槽，确认胶板是否破损
	pH 值下降	用去离子水重新配置电泳缓冲液
电泳时间过长	胶带未撕	撕掉胶板下方胶带
	电泳条件有误	使用固定电压和自动电流，如：140V恒压条件进行电泳
溴酚蓝前沿附近条带模糊或条带与预期不符	凝胶中离子干扰（分析小分子蛋白时容易出现）	使用MES电泳缓冲液
		电泳更长时间或者忽略
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	使用透析或超滤除盐
凝胶与胶板间出现大量气泡	电泳缓冲液过热	4°C时电泳
		在外槽添加更多的电泳缓冲液
蛋白上样量达不到样品孔的最大体积	上样不够仔细或太快	需比较慢且小心地上样

江苏省南京市江宁科学园雍熙路28号
电话：400-025-8686-5810 025-58897288-5810 电子邮箱：product@genscript.com.cn 网址：www.genscript.com.cn

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
江苏省南京市江宁科学园雍熙路28号，邮编211100
客服热线：025-58897288-5810
订购邮箱: product@genscript.com.cn
公司主页: http://www.genscript.com.cn