

ExpressPlus™ PAGE Gel

Frequently Asked Questions (FAQs)

Frequently Asked Questions

预制胶在使用前需要特别处理吗？	ExpressPlus™ 预制胶产品打开包装即可用于蛋白电泳实验，但请一定撕掉胶板底部绿色封口胶带。并请检查电泳槽密封条是否需要翻转，以保证内槽密封。
ExpressPlus™ 预制胶能否用于非变性电泳？	可以用于非变性电泳。非变性电泳由于受蛋白质的亚基及电荷量少的影响，存在条带偏移率低（泳动速度慢）、条带不够锋利等现象。由于非变性电泳时间较长，请根据实验设计先进行电泳条件优化。
应该使用什么电泳缓冲液？	推荐使用 MOPS 电泳缓冲液。对于小分子量蛋白，请使用 MES 缓冲液。请勿使用 Tris 甘氨酸电泳缓冲液。
1X MOPS 电泳缓冲液配制后是否需要调节 pH 值？	金斯瑞 Tris-MOPS-SDS Running Buffer Powder (Cat. No : M00138) 在产品设计时已经考虑了成品缓冲液 pH 值。配制成溶液后即可用于蛋白电泳实验，pH ≈ 7.6。
跑完一块胶需要多久？	电泳时间取决于选取的电泳缓冲液、凝胶浓度以及兴趣蛋白的分子量大小。在 MOPS 电泳缓冲液，140V 恒压条件下，电泳时间通常是 50 分钟。一片凝胶电泳时，初始电流大约在 70-100mA。适当提高电泳仪输出电压设定，可以缩短电泳时间。但高电压会引起电泳实验体系温度上升，导致电泳过程出现不可预料的情况。不推荐超过 180V 的电压设定。
ExpressPlus™ 预制胶可以用于哪些电泳槽？	只要是兼容 10 x 8 cm 或 10 x 10 cm 丙烯酰胺凝胶的垂直型电泳槽，ExpressPlus™ 预制胶都有良好的兼容性。
为什么在蛋白转印时凝胶变的很粘？	低浓度凝胶质地较软，转膜时易受热，与转印膜粘连。

<p>其他公司的出品的染料是否可以用于金斯瑞预制胶染色？</p>	<p>每家公司的蛋白染料产品配方不同。以考马斯亮蓝 G₂₅₀ 或 R₂₅₀ 为主要成分的染色液与 ExpressPlus™ 预制胶产品兼容性较好。推荐使用金斯瑞出品的 eStain™ L1 蛋白染色仪 (Cat.No : L00657) 对电泳后凝胶进行处理。目前确认金斯瑞预制胶与 Thermo Fisher Scientific Inc. 的染料不兼容。天根生化科技 (北京) 有限公司的考马斯亮蓝快速染色液可用于 ExpressPlus™ 预制胶产品的染色。</p>
<p>过夜脱色会影响条带的锐度吗？</p>	<p>不同的脱色液配方会影响脱色效果。推荐用于过夜脱色的脱色液配方是：15%乙醇，10%乙酸的水溶液。</p>
<p>如使用 eStain 2.0 Protein Staining Device (Cat.No : L02016) , 怎样调整 ExpressPlus™ 预制胶的染色时间？</p>	<p>一般情况下无需调整。对于浓度较高的凝胶，可以尝试增加 1-2 分钟的处理时间，以获得理想的脱色效果。</p>
<p>ExpressPlus™ 预制胶在室温下稳定吗？</p>	<p>ExpressPlus™ 预制胶在室温下可以保存 1 个月。为获得最佳实验效果，请 2-8℃ 保存。</p>
<p>如何使用传统染色脱色方法处理预制胶？</p>	<p>A. 考马斯亮蓝 R-250 使用微波炉染色:</p> <ol style="list-style-type: none"> 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。

Troubleshooting: Protein Electrophoresis

Problems	Possible Cause	Suggested Solution
条带变形	上样孔中有气泡 或者有凝胶保存缓冲液	加注电泳缓冲液前后，使用注射器吸取缓冲液轻轻冲洗上样孔，将气泡吹出。
	样品蛋白浓度过高。	使用上样缓冲液稀释蛋白样品。
条带拖曳、滞孔	样品中含有较大颗粒杂质如细胞碎片、菌体碎片。	高速离心后，取上清液电泳。
	蛋白样品（如包涵体蛋白）未充分溶解。	在样品中添加额外的十二烷基硫酸钠硫酸钠（SDS）或者使用上样缓冲液稀释样品。
	上样时，样品溢出到相邻条带。	降低上样量。发现溢出时使用缓冲液冲洗上样孔。

高浓度条带出现在相邻泳道	上样孔破损。	移除制孔梳时加倍小心。发现上样孔破损后换用新的凝胶。
	胶板变形。	在安装预制胶时先移除制孔梳，再固定在电泳槽内。 使用垫片、翻转密封条时注意是否会对凝胶产生过大的压力，导致凝胶变形。
	凝胶变干，上样孔萎缩。	打开包装后，防止凝胶干燥。 为防止凝胶变干，可以尽快装置到电泳槽内，并加注电泳缓冲液。 怀疑凝胶变干时，可将凝胶在电泳缓冲液中浸泡一段时间，待凝胶恢复形状后上样。
泳道整体成外“八”字形	胶板变形。	安装预制胶时先移除制孔梳，再固定在电泳槽内。 使用垫片、翻转密封条时注意是否会对凝胶产生过大的压力，导致凝胶变形。
	凝胶底部绿色胶带未移除。	移除绿色密封胶带。
条带迁移速度过慢	凝胶安装不当，电泳槽内槽漏液（与外槽有溶液联通现象）。	检查内槽密封条、垫片等附件是否安装恰当。
	电压设置有误，或者使用了不当的电泳缓冲液。	确认凝胶安装位置，重新安装凝胶。 推荐使用正确浓度的 MOPS 电泳缓冲液
蛋白条带前沿模糊	离子干扰（小分子蛋白电泳容易出现此现象）。	换用 MES 电泳缓冲液。
蛋白条带前沿变黄	电泳缓冲液性能下降，pH 降低。	换用新鲜配制的电泳缓冲液。
	凝胶浓度选择不当。	根据凝胶最佳分离范围选用不同浓度凝胶。对于小分子蛋白的分离，请选用较高分离胶浓度的预制胶产品或者换用专门为小蛋白开发的预制胶产品。
	样品蛋白量超出凝胶分离能力。	提高电泳缓冲液用量。 或者使用冰袋对缓冲液降温降温、在低温环境中进行电泳实验等方法改善效果。

蛋白分离效果不佳	样品含盐量过高。	使用透析、超滤，或者稀释的方法降低盐浓度后电泳。
	电泳体系温度过高。	提高电泳缓冲液用量。 或者使用冰袋对缓冲液降温降温、在低温环境中进行电泳实验等方法改善效果。
	MOPS 电泳缓冲液性能无法达到实验设计要求。	换用 MES 电泳缓冲液进行尝试。
8%的胶在转膜时粘在膜上	凝胶浓度低、质地较软，转膜时易受热，与转印膜粘连。	添加冰袋、或在低温环境中进行实验，控制转膜温度。
非变性电泳时条带模糊染色时间？	非变性电泳由于受蛋白质的亚基及电荷量少的影响，存在涌动速度慢、条带不够锋利等现象。	优化电泳缓冲液配方。 保证蛋白带有足够的电荷量。 同时注意是否需要调整电泳仪电源正负极。