天净沙系列

CAT#:211246-2

常温运输和保存

天净沙

脂多糖非变性 PAGE 电泳试剂盒

LPS Native PAGE Electrophoresis Kit

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品就是专门用于脂多糖（LPS）非变性 PAGE 电泳的试剂盒，它具有下列特点:

1. 一站式，用户只需要准备去离子水和样品，不需要单独优化各种条件，十分方便。
2. 安全，免去了实验人员接触粉末状的有毒物品丙烯酰胺。
3. PAGE 电泳后可直接用于银染等后续试验。
4. 本产品足够 30 次 mini PAGE 凝胶电泳。
5. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品第一部分，大纸盒包装，常温运输和保存。

成份	编号	规格	包装
丙烯酰胺，电泳级	211237a	60 g	250 mL 棕色瓶
甲叉双丙烯酰胺，电泳级	100877	2 g	10 mL 棕色瓶
TBE 电泳液，10×	90313	250 mL	250 mL 本色瓶
TEMED	110-18-9	1.5 mL	2.0 mL 白盖管
过硫酸铵	100879	1 g	2.0 mL 绿盖管
使用手册	100205sc	1 份	1 份

本产品第二部分，logo 热封袋包装，低温运输，-20℃保存。

成份	编号	规格	包装
2×脂多糖非变性PAGE上样液	211246-2a	1.5 mL	2.0 mL 棕盖管

运输及保存

大纸盒常温运输，logo 热封袋低温运输，收到货后两部分的保存条件见上表，有效期一年。

自备试剂

去离子水、脂多糖 PAGE 胶银染试剂盒

使用方法

1. PAGE 浓度的选择:根据脂多糖大小选择 PAGE 凝胶的浓度。5%的 PAGE 的有效分辨范围为 52~325 kDa、8%的 PAGE 的有效分辨范围为 39~260 kDa、12%的 PAGE 的有效分辨范围为 26~130 kDa。
2. 体积的选择：根据制胶板体积，结合梳子的厚度，计算所需 PAGE 胶的体积。
3. 配制 PAGE 胶（下面以配制 100 mL PAGE 胶为例计算用量，配制更大体积的胶则需以此用量为基础按比例增加）：

   A：新鲜配制 10%的 APS（过硫酸铵）：称量约 0.1 g 硫酸铵干粉到一个 1.5 mL EP 管中，按每 0.1 克过硫酸铵干粉加 1 mL 自备去离子水的比例将水加到管中，摇晃到硫酸铵粉末全部溶解。配制好的 10%的

APS 溶液可以在 4℃存放一周，超过一周不能再用。

B：新鲜配制 30%的丙烯酰胺-甲叉双丙烯酰胺溶液（29:1）：将 2 g 甲叉双丙烯酰胺倒入到装有 60 g 丙烯酰胺的 250 mL 棕色塑料瓶中，天平上去皮，加入 146 mL 自备的去离子水，充分摇晃直到溶解（约需 10-20 分钟）。此溶液简称为 30% AB 溶液，最好在一个月内用完，4℃保存。

C：配 PAGE 胶：在一个 250 mL 的三角瓶中，以 12%的 PAGE 胶为例，先按下表的用量加入去离子水、30% AB 溶液和 10×TBE 电泳液。丙烯酰胺单体溶液具有神经毒性，一定要戴手套操作。

胶浓度	各成分用量（单位：mL）			总体积（mL）
	去离子水	30% AB 溶液	10×TBE 电泳液	
5%	73.4	16.6	10.0	100
6%	70.0	20.0	10.0	100
7%	66.7	23.3	10.0	100
8%	63.3	26.7	10.0	100
9%	60.0	30.0	10.0	100
10%	56.7	33.3	10.0	100
11%	53.3	36.7	10.0	100
12%	50.0	40.0	10.0	100

D：摇晃混匀。最好能抽真空 10-15 分钟以去除溶液中的氧气（氧气能抑制丙烯酰胺聚合反应），无条件也可以不脱氧。

E：加入 500 μL 10% APS 和 100 μL TEMED，迅速摇匀后倒胶。

F：在 PAGE 胶的液面距离达到顶部时停止灌胶，插入梳子。

G：室温聚合 30-60 分钟（低温抑制聚合反应，故最好室温）。

H：待 PAGE 胶凝固后拔出梳子，用 1×TEB 液冲洗加样孔。

I：放 4℃冰箱预冷 30 分钟-12 小时。为了防止 PAGE 胶收缩，最好在其顶部加少量 1×TBE 缓冲液。使用预冷的 PAGE 胶有利于脂多糖在电泳时保持其构型。

4. 将预冷后的 PAGE 凝胶板固定在电泳装置上，往上槽和下槽中加入足够 1×TEB 电泳液。

5. 取 3-5 μL 脂多糖样品，加入等体积 2×脂多糖非变性 PAGE 上样液，85℃处理 5 分钟后冰浴。用前短暂离心后取 2 μL 上样。上样量跟检测方法的

	灵敏度相关，可根据预实验结果和脂多糖样品的具体浓度调整上样量。 6. 连接电源线，打开电源开关。使用 25 W 的功率，电泳 5-7 小时（对 3-40 cm 长的 PAGE 胶而言）。电泳时最好能保持恒温在 4℃。 7. 终止电泳，取出凝胶进行后续的银染处理。不建议使用灵敏度低于银染的方法，一般方法没法检测到。
关联试剂	脂多糖 PAGE 胶银染试剂盒