天净沙系列

CAT#:7-EC1.1.1.37-GB2

低温运输，4℃保存

日本沼虾聚丙烯酰胺凝胶同工酶电泳及染色试剂盒-苹果酸脱氢酶 MDH（GB 20555-2006 改良)

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

本产品为日本沼虾聚丙烯酰胺凝胶同工酶电泳及染色试剂盒，由国标方法改良而来，可用于检测苹果酸脱氢酶（MDH，EC1.1.1.37）。其检测原理是在适宜 pH 缓冲体系下，凝胶中分离后的 MDH 催化底物脱氢，经电子传递最终与显色物质反应生成颜色。染色后，MDH 所在位置的颜色将跟周边的 MDH 区域的颜色呈现色差，由此可判钙 MDH 的存在与否和活性高低，并可获得 MDH 的同工酶谱，经扫描后可获得相对活性及相对迁移率。本产品就是基于此原理精心优化开发，它具有以下特点：

1. 基于国标 GB 20555-2006 开发。
2. 本产品即开即用操作简单便捷，客户无需从头开始设计和优化实验。
3. 本试剂盒含电泳试剂和酶谱试剂。
4. 本产品至少可用于 100 个样品的电泳及染色实验。
5. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品由两个大扁盒组成

成份	编号	规格	包装
配胶液	7-EC1.1.1.37-GB2a	50 mL	60 mL 本色瓶
2×电极缓冲液	7-EC1.1.1.37-GB2b	250 mL×8	250 mL 本色瓶
浓缩胶缓冲液	7-EC1.1.1.37-GB2c	30 mL	30 mL 本色瓶
染色缓冲液	7-EC1.1.1.37-GB2d	250 mL	250 mL 本色瓶
底物溶液	7-EC1.1.1.37-GB2e	200 mL	250 mL 本色瓶
TEMED	CAS:110-18-9	700 μL	2 mL 棕色管
过硫酸铵	CAS:77274-0	0.5 g	2 mL 本色管
NAD 辅酶	CAS 53-84-9	2.5 g	5 mL 棕色瓶
氯化硝基四氮唑蓝，>98.0%，生物技术级	CAS:298-83-9	0.6g	5 mL 棕色瓶
吩嗪硫酸甲酯，98%	CAS:299-11-6	100 mg	2 mL 棕色管
95%乙醇	7-EC1.1.1.37-GB2f	30 mL	30 mL 本色瓶
50%甘油	7-EC1.1.1.37-GB2g	30 mL	30 mL 本色瓶

运输及保存

低温运输，4℃保存，有效期一年。

自备物品

凝胶模具，蒸馏水，玻璃匀浆器，7%乙酸。

使用流程	**一、试剂配制** 1. 将 0.5 g 过硫酸铵溶于 33 mL 水中，获得过硫酸铵溶液。 2. 将辅酶 NAD、氯化硝基四氮唑蓝和吩嗪硫酸甲酯按 500 mg:300 mg:20 mg 的比例添加并用蒸馏水定容至 100 mL，得到染色液 A。注：染色液 A 保质期在 4℃避光仅可保存 2-3 天，如用不完可按照比例适当缩小以免造成浪费。 3. 按染色液 A、底物溶液、染色缓冲液和水按 10:10:25:90 的比例配制成染色工作液。（常温保质期仅几个小时，请染色前现配现用） **二、样品制备** 4. 样品制备按 1 g 样品加 2.5 mL 2×电极缓冲液和 2.5 mL 50%甘油，然后在 4℃、12000 r/min 条件下离心 30 min。取上清液置-80 冰箱中保存备用。 **三、电泳分离** 5. 取大小合适的容器加入 3.56 mL 配胶液、2.5 mL 2×电极缓冲液、45 μL TEMED、480 μL 过硫酸铵溶液，加蒸馏水至 10 mL 后灌入模具（需预留合适空间给浓缩胶）在液面上加 95%乙醇溶液进行密封。 6. 待底层分离胶凝固，弃去 95%乙醇并用蒸馏水冲洗 3 遍后配置浓缩胶。 7. 另取一合适容器加入 0.9 mL 配胶液、0.65 mL 浓缩胶缓冲液、480 μL 过硫酸铵溶液、45 μL TEMED，加蒸馏水至 5 mL 后灌入模具后插上梳子静置超过 4 h 使其充分聚合。 8. 电泳条件是 150 V 预电泳 30 分钟（不上样），上样后冰浴 80 V 恒压 1 h，之后 120 V 电泳 2.5 h。 **四、染色并扫描** 9. 取出凝胶，置于染色工作液中，于 37℃恒温箱内保温染色约 30 分钟（如肉眼观察条带较浅可适当延长染色时间）。 10. 待出现合适的条带后可用水漂洗 3-5 次。 11. 用 7%的乙酸终止并固定。 12. 用薄层激光扫描仪对染色后的电泳胶进行扫描，波长为 370 nm，可得到酶谱扫描图、相对活性及相对迁移率。
关联产品	苹果酸脱氢酶