



## NEXT GEL®

Code	Description	Size
M255-100ML	NEXT GEL® 7.5%	100 mL
M255-500ML	NEXT GEL® 7.5%	500 mL
M256-100ML	NEXT GEL® 10%	100 mL
M256-500ML	NEXT GEL® 10%	500 mL
M257-500ML	NEXT GEL® 12.5%	500 mL
M258-100ML	NEXT GEL® 15%	100 mL
M258-500ML	NEXT GEL® 15%	500 mL

VWR 的 NEXTGEL® 是 SDS-PAGE 電泳專用的即用型溶液，由 acrylamide，bis-acrylamide，凝膠緩衝液和 SDS 組成。NEXTGEL® 獨特化學成分去除了對上層 stacking gel 的需求，減少凝膠製備時間並增加了用於解析蛋白質分子量的 separation gel 的長度。

**存儲:** 儲存在室溫 (18 - 26°C)。

**需要而未提供的材料:**

過硫酸銨 (APS)

TEMED

樣品緩衝液 (Sample Loading Buffer, 建議使用 VWR M260-5.0ML)

**Protocol:**

NEXT GEL® Concentration	Molecular Weight Separation Range
7.5%	20 – 300 kDa
10%	10 – 200 kDa
12.5%	3.5 – 100 kDa
15%	2.5 – 100 kDa

蛋白質分子量與適合的 NEXT GEL® 濃度

## 凝膠聚合和組裝

1. 準備新鮮的 10% 的 APS 溶液，溶於水中。
2. 每製作一片 10 cm x 10 cm x 0.75 mm 的 mini-gel，需倒入 10 mL NEXTGEL<sup>®</sup> 丙烯酰胺到 50 mL 離心管中。
3. 每 10 mL NEXTGEL<sup>®</sup> 加入 60 uL 10% APS 和 6 uL 的 TEMED。
4. 緊緊蓋住管子，輕輕顛倒混合。
5. 立即注入鑄膠板中，小心去除上方氣泡。
6. 立即插入齒梳，讓凝膠完全聚合，約 15-30 分鐘。
7. 用去離子水進行 NEXTGEL<sup>®</sup> Running Buffer (20X) 的 20 倍稀釋。
8. 組裝跑膠系統並用 1X NEXTGEL<sup>®</sup> Running Buffer 充分填充陽極室和陰極室。
9. 從凝膠上取下齒梳，並用 Running buffer 沖洗每個孔。

## 樣品製備和凝膠電泳

\*注意：要使用 NEXTGEL<sup>®</sup> mini-gel 獲得最佳分辨率，請參閱以下指南。  
如果凝膠用於銀染，則減少 10 至 100 倍的蛋白質加載量。

Sample	Concentration per well	Total amount per well
Purified protein	0.02 – 0.1 µg/µL	0.2– 1.0 µg
Lysate	0.16 – 10 µg/µL	1.6 – 100 µg

1. 將 samples 與 sample loading buffer 混合後 (注意蛋白質的總量)，在水浴中加熱/煮 3-5 分鐘並冷卻 (溫度與時間依目標蛋白質的特性而定)。
2. 每孔加載 10 uL 的 samples。
3. 在 150 伏特下跑膠 60-90 分鐘或直到 loading dye 染劑離底部 1~2 cm。若要提高 resolution，可降低跑膠的伏特數 (90~120V)。
4. 拆開凝膠裝置並接續下游的應用。如果要做 Western blot，可使用 Rapid transfer buffer (N789) 或一般的 transfer buffer (20 mM Tris pH8, 150 mM Glycine，20% Methanol)。

## 常見問題:

問題	可能原因	解決方法
為什麼 Gel 跑得太慢了?	電源設置不正確	除了特殊狀況，電泳應設在恆定電壓 150 伏
	使用不正確的 Running Buffer	僅使用 NEXTGEL® Running Buffer。使用其他 Running Buffer 將增加運行時間並降低解析率
	蛋白質樣品中的 salt, lipid 或核酸的濃度太高	用任何一種 protein cleanup 的方法來降低非蛋白質污染物的濃度
	蛋白質量超載	減少加載蛋白質的總量
為什麼 bands 跑出來會扭曲，兩側上揚 (smiling)，或解析度很差?	蛋白質樣品中的 salt, lipid 或核酸的濃度太高，造成電阻增加並導致凝膠過熱	用任何一種 protein cleanup 的方法來降低非蛋白質污染物的濃度
	使用不正確的 Running Buffer	僅使用 NEXTGEL® Running Buffer
	蛋白質量超載	減少加載蛋白質的總量
	樣品降解	在 protein purification 步驟中添加 protease inhibitors (如 M221 或系列產品)並保持樣品低溫。
為什麼 gel 跑出來有 smearing 的現象?	樣品與 sample buffer 可能在 100°C 加熱期間發生不可逆的蛋白質沉澱現象	將加熱溫度降低至 60-70°C
	凝膠 % 不合適	嘗試不同的 NEXTGEL® 濃度
為什麼 Marker bands 的位置和一般的 Laemmli SDS-PAGE gel 跑起來不同?	NEXTGEL® 是一個連續的 buffer 系統而非不連續的如 Laemmli gel。NEXTGEL® resolution gel 更長，沒有 stacking gel。NEXTGEL® 電泳比 Laemmli gel 跑膠時會產生更多的熱量。	樣品在 7.5% NEXTGEL® 的 mobility 是類似於在 10% Laemmli 凝膠的 mobility。
為什麼小分子量的蛋白質擴散或看不到?	低於 10kDa 的蛋白質很難固定在 gel 中	凝膠跑完後立即添加固定液或染色液。在染色或 transfer 前不要用水或 buffer 沖洗 gel。

跑 gel 時電泳槽過熱怎麼辦?	NEXTGEL® 通常比 Laemmli SDS-PAGE gel 跑起來熱。	將電壓降低 25%或更多 (112V 以下)
可以用 TG-SDS 或其他 Running Buffer?	No	僅使用 NEXTGEL® Running Buffer
可以用一般 Laemmli gel 用的 sample loading buffer 嗎?	Yes	建議使用 NEXTGEL® sample loading buffer (M260)，但是可相容其他 sample loading buffer。
凝膠製作好了可以儲存一段時間嗎?	Yes	凝膠可以放入含濕紙巾的密封塑料袋內，冷藏保存一個星期。
NEXTGEL® 可兼容 2D 電泳嗎?	Yes	NEXTGEL® 出色的解析度，可完美取代 2D 電泳傳統的 SDS-PAGE 分子量分離階段。
NEXTGEL® Rapid transfer buffer 是唯一可使用的 transfer buffer 嗎?	No	NEXTGEL® Rapid Transfer Buffer，10X (N789)和傳統轉移緩衝液 (20 mM Tris pH 8，150 mM Glycine，20% Methanol)皆可以使用。
NEXTGEL® 可和 Pre-stained Protein Marker 相容嗎?	取決於染劑的成分，某些 Pre-stained Marker 的 Dyes 與 NEXTGEL® 系統可能不相容	使用非 Pre-stained 的 Protein Marker

**For Technical Support**

**Email: [tech@protech.com.tw](mailto:tech@protech.com.tw)**