



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// [www.real-tims.com.cn](http://www.real-tims.com.cn)

E-mail: [real-times@163.com](mailto:real-times@163.com)

## 非变性凝胶蛋白电泳试剂盒（含预制胶）

### Native PAGE Gel Protein Electrophoresis Kit

货号	名称	规格
RTD6135	非变性凝胶蛋白电泳试剂盒	10 次

#### ● 产品组成:

货号	名称	规格	贮存
RTD6117-0415	RealPAGE Tris-Gly 预制胶 4-15%	10 板	4°C
PL111	5×非变性非还原蛋白上样缓冲液	1 ml	-20°C
TG130P	5×Tris-甘氨酸电泳缓冲液（粉末型）	1 L	RT
RTD6202-02	FastBlue 蛋白染色液	500 ml	RT

#### ● 运输和贮存:

本产品常温运输；组份按照标签温度贮存；有效期一年。

#### ● 产品简介:

本公司提供的非变性凝胶蛋白电泳试剂盒包含非变性电泳所需的全部试剂，用户只需自备蛋白电泳设备。试剂盒配套有预制胶，不需要自己制备凝胶，方便使用。另外，试剂盒提供蛋白上样缓冲液，电泳缓冲液以及染色液，可以方便完成蛋白样品从上样到最后染色的全部过程。

试剂盒配套的预制胶为梯度凝胶，浓度为 4-15%，可以分离 20-1000 kD 蛋白，最佳分离范围 30-800 kD。

本试剂盒可以进行 10 次非变性电泳。配套的预制胶厚度为 1.1 mm，12 齿，每个泳道可以上样最大 30  $\mu$ l 样品。

**特别说明：**由于本系统采用非连续 Laemmli 凝胶系统（Tris-Glycine 系统），电泳凝胶系统 pH 在 8.3-8.8，因此要求待分离的蛋白等电点  $pI \leq 8.0$ （酸性蛋白），这样蛋白在凝胶系统内带负电荷， $pI$  越低于 8.0，带更多的负电荷，在凝胶电泳中才能正常向正极泳动。如果待分离的蛋白等电点  $pI > 8.0$ （碱性蛋白），请选择碱性电泳凝胶系统分离（货号 RTD6131）。

#### ● 使用说明:

##### 1. 样品制备:

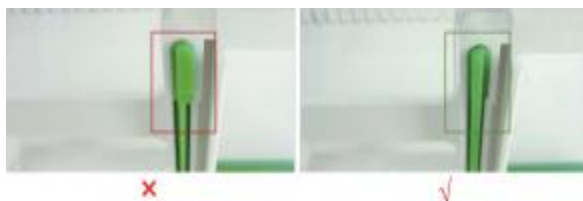
该试剂盒不含样品制备的相关试剂，请根据参考文献自行制备非变性蛋白样品。

注：非变性样品制备中注意不用使用任何变性剂如 SDS，LDS 以及还原型如 DTT，BME，TCEP 等，以防止蛋白变性。非变性样品的电泳对盐离子浓度高度敏感，样品电泳时尽量把盐离子浓度控制在 100 mM 以内，过高的盐离子浓度导致电泳拖尾，条带不能有效分离。

##### 2. 电泳:

2.1 拆开预制胶包装，将预制胶安装在合适的电泳槽中。

注：**伯乐 Mini III 或 Mini-PROTEAN Tetra Cell，天能 VE-180，六一 24K 系列电泳槽请确保密封条的安装方向（下图）。**



六一其他系列，君意东方 JY-SCZ2/4，百晶 BG-verMINI 等电泳槽可以直接使用预制胶。  
**不兼容 Thermol 系列电泳槽。**

## 2.2 准备电泳缓冲液：

将 5×Tris-甘氨酸电泳缓冲液（粉末型）溶于 1 L 超纯水中，彻底溶解，测定 pH 应为 8.3-8.5 左右，不要调节 pH。用前稀释 5 倍即配成 1×即用型 Tris-甘氨酸电泳缓冲液。

## 2.3 准备上样样品：

<b>总体积</b>	<b>10 <math>\mu</math>l</b>
蛋白样品	x $\mu$ l
5×非变性非还原蛋白上样缓冲液	2 $\mu$ l
超纯水	补至 10 $\mu$ l
	不要加热

## 2.4 电泳过程：

在电泳槽的内槽内加入 1×Tris-甘氨酸电泳缓冲液(让电泳缓冲液漫过加样孔)，轻轻的拨出梳子，用 1ml 吸头冲洗加样孔 3 次；随后在电泳槽外槽加入适量的 1×Tris-甘氨酸电泳缓冲液。上样，电泳。

Native-PAGE 电泳			
恒电压	起始电流	结束电流	电泳时间
150V	40-30 mA/板胶	10-15 mA/板胶	60+min
注：冰浴电泳（可选）			

## 3. 染色：

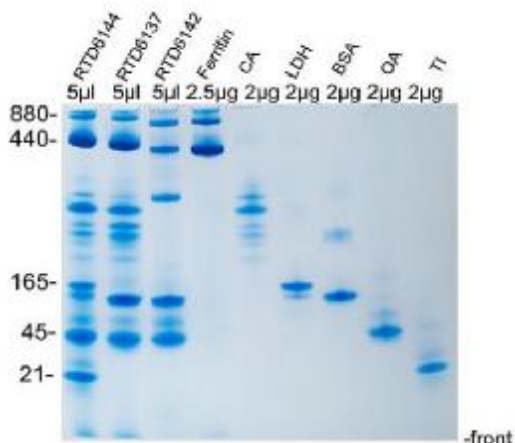
3.1 将电泳后的 PAGE 胶取下放入塑料容器中，加入适量 FastBlue 蛋白染色液（以刚刚覆盖过胶面为适），摇床常温摇动，条带 5-10 分钟即可见（蛋白含量高于 1  $\mu$ g 条带）。

3.2 摇床常温继续摇动 15-30 分钟至条带清晰可见。

3.3 加入适量蒸馏水脱色，期间更换 1-2 次蒸馏水，摇床常温摇动 10-15 分钟至背景干净。

3.4 观察保存结果。

## 4. 实验示例：



RTD6117-0415 4-15% RealPAGE Precast Gel  
 150V 35-11mA 67min  
 1×Tris-甘氨酸电泳缓冲液  
 FastBlue 蛋白快速染色染色 15 分钟