



# 中科瑞泰

Ver. 710153

## 非变性PAGE凝胶制备及电泳试剂盒

Native PAGE Gel Preparation and Electrophoresis Kit

### 产品编号及规格:

RTD6130

50次

### 产品组成:

货号	名称	规格	贮存
AC2913-01	30%PAA(29:1)	100 ml	4℃
RTD6130-02	4×分离胶缓冲液 pH8.8	100 ml	4℃
RTD6130-03	4×浓缩胶缓冲液 pH6.8	50 ml	4℃
AP020P	10% APS (干粉)	5 ml	RT
TA0761-01	TEMED	0.5ml	4℃,避光
PL111	5×非变性非还原蛋白上样缓冲液	1 ml	-20℃
TG130P	5×Tris-甘氨酸电泳缓冲液 (干粉)	1 L	RT

### 产品简介:

本公司提供的非变性PAGE凝胶制备及电泳试剂盒包含凝胶制备及电泳所需的全部试剂, 用户只需自备制胶器具和蒸馏水。

本试剂盒可配制30—50块常规大小的非变性PAGE胶。

特别说明: 由于本系统采用非连续Laemmli凝胶系统, 分离胶pH为8.8, 因此要求待分离的蛋白等电点 $pI < 7.0$ , 这样蛋白在凝胶系统内带负电荷, 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 $pI > 7.0$ , 请选择碱性电泳凝胶系统分离(货号RTD6131)。

### 贮存运输和效期:

按照标签温度贮存; 试剂盒常温运输; 开封后有效期一年。

### 使用说明:

#### 一. 准备工作:

1. 10% APS配制—5 ml: 将0.5 g APS干粉溶于5 ml 灭菌水中, 彻底溶解后分装, 1 ml/支, -20℃冻存, 每次取一管使用。10% APS应尽量减少常温存放时间, 以防失效。10%APS在4℃有效期为一周, 若发现凝胶聚合时间延长, 应考虑更换使用-20℃保存的10%APS。

#### 二. 制胶:

##### I 配制分离胶:

1. 参照凝胶模具说明书, 装配好凝胶模具。
2. 按照表一将不同体积的分离胶成分在小烧杯中混匀; 最后加入10%APS和TEMED, 轻轻搅拌使其混匀。

表一 配制不同浓度凝胶所需各组分的体积

	浓缩胶		分离胶			
	5%	6%	8%	10%	12%	15%
超纯水	1.15 ml	2.7 ml	2.4 ml	2.0 ml	1.7 ml	1.2 ml
30% PAA(29:1)	0.33 ml	1 ml	1.3 ml	1.7 ml	2 ml	2.5 ml
4×浓缩胶缓冲液	0.5 ml	-	-	-	-	-
4×分离胶缓冲液	-	1.25 ml	1.25 ml	1.25 ml	1.25 ml	1.25 ml
10%APS	20 μl	50 μl	50 μl	50 μl	50 μl	50 μl
TEMED	2 μl	5 μl	5 μl	5 μl	5 μl	5 μl
总体积	2 ml	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml

3. 在凝胶模具中灌入适量分离胶溶液(对于8×10cm凝胶, 凝胶液加至约距前玻璃板顶端1.5 cm或距梳齿约0.5 cm即可), 然后在分离胶溶液上轻轻覆盖一层1 cm的水层, 使凝胶表面保持平整。
4. 常温静置10—20分钟, 待分离胶和水层之间出现一个清晰的界面后, 说明凝胶已聚合。

##### II 配制浓缩胶:

1. 去除覆盖在分离胶上的水层。
2. 按照表一将不同体积浓缩胶成分在一个小烧杯中混匀; 最后加入10%APS和TEMED, 轻轻搅拌使其混匀。
3. 将浓缩胶溶液加至分离胶的上面, 直至凝胶溶液到达前玻璃板的顶端。
4. 将梳子插入凝胶内, 避免产生气泡。
5. 常温静置30—60分钟, 等待浓缩胶聚合。

注: 凝胶的聚合时间与环境温度有关。夏天温度较高时, 聚合较快; 冬天气温低时, 聚合时间会延长。可以根据环境温度的不同调节APS的加入量。

#### 三. 电泳:

##### 1. 5×Tris-甘氨酸电泳缓冲液(不含SDS)的配制:

将一包干粉全部倒入1L烧杯中, 加入约900 ml水彻底溶解, 用水定容至1 L(此溶液不用调节pH值)。电泳前将缓冲液稀释5倍即配成1×Tris-甘氨酸电泳缓冲液(不含SDS)。

##### 2. 样品处理: 融化—混合—上样

- ① 将5×非变性非还原蛋白上样缓冲液常温融化后混匀。
- ② 将上样缓冲液与蛋白样品按照1:4的比例混匀。
- ③ 快甩离心收集到管底, 上样电泳。(不要加热处理样品)

##### 3. 电泳:

在电泳槽的内槽加入1×电泳缓冲液, 轻轻拔出梳子, 冲洗加样孔, 随后在电泳槽外槽加入适量的1×电泳缓冲液。上样, 恒电压150V电泳。

##### 4. 染色或进行下游实验。

恒电压	150 V
起始电流	30—40 mA
终止电流	10—20 mA
电泳时间	40—50 min