



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// www.real-times.com.cn

E-mail: real-times@vip.163.com

非变性凝胶蛋白电泳试剂盒（含塑料板预制胶） Native PAGE Gel Protein Electrophoresis Kit

Ver.860970-1.0

货号	名称	规格
RTD6135P	非变性凝胶蛋白电泳试剂盒（含塑料板预制胶）	10 次

● 产品组成：

货号	名称	规格	贮存
RTD6119-0415-11	4-15%RealPAGE Tris-Glycine 预制胶(塑料板) 11 孔	10 板	4℃
PL111-01	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（粉末型）	1 L	RT
RTD6202-02	FastBlue 蛋白染色液	500 mL	RT

● 贮存、效期及运输：

预制胶于 4℃贮存，禁止冷冻；其他组分按标签所示温度贮存。产品有效期为 1 年。常温运输。

● 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 PAGE 电泳及染色所需的主要试剂，用户只需自备蛋白电泳设备及待测样品。试剂盒配有预制胶，不需要自己制备凝胶，方便使用。试剂盒同时提供非变性蛋白上样缓冲液、电泳缓冲液及蛋白染色液，可完成蛋白样品从上样、电泳到染色的全过程。

技术规格	
塑料胶板尺寸	10×8.2 cm
凝胶尺寸及厚度	凝胶尺寸及厚度：8.2 × 7.2 cm；厚度 1 mm
加样孔	11 齿
凝胶浓度	4-15%梯度胶（Tris-甘氨酸体系）
推荐上样体积	推荐上样体积 10-20 μL；最大上样体积 35 μL
检测分子量范围	最佳分离范围：30-800 kDa；可分离范围：20-1000 kDa
推荐染色方法	推荐使用 FastBlue 蛋白染色液（RTD6202）快染
推荐非变性 Marker	宽分子量非变性电泳蛋白质 Marker II（21-880 kD）（RTD6136）
推荐电泳缓冲液	Tris-甘氨酸电泳缓冲液（TG130,TG130P,TG170,TG191P）
推荐上样缓冲液	5×非变性非还原蛋白上样缓冲液（PL111）
推荐电泳条件	推荐恒压 150 V 电泳，电泳时间约 60–80 min
转膜	湿转：推荐使用 Tris-甘氨酸转膜缓冲液（TB1040）
不适用变性电泳	本预制胶不适用于变性 PAGE 电泳。

特别说明：本系统采用非连续 Laemmli Tris-Glycine 电泳体系，凝胶及电泳缓冲体系的工作 pH 约为 8.3–8.8。待分离蛋白的等电点（pI）应低于电泳体系 pH，使蛋白在电泳条件下整体带负电荷，并

向正极迁移。通常建议用于 $pI \leq 8.0$ 的酸性或中性蛋白。对于 $pI > 8.0$ 的碱性蛋白，建议选择适用于碱性蛋白的电泳体系（RTD6131）或 BN 体系（RTD6139 或 RTD6140）。

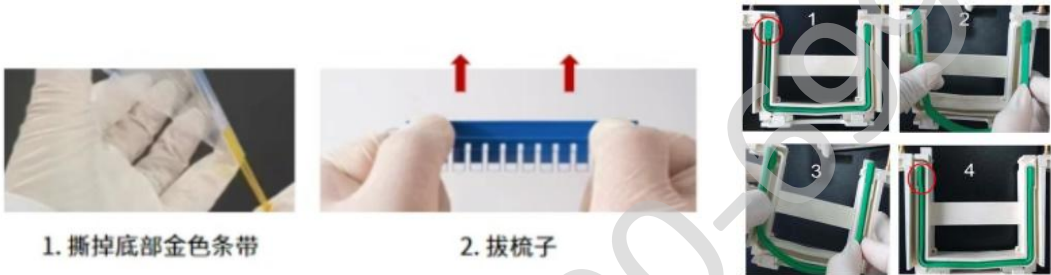
● 使用说明：

1. 样品制备：

本试剂盒不包含样品制备相关试剂，请根据实验目的及相关参考文献制备非变性蛋白样品。
注：制备非变性蛋白样品时，请勿加入 SDS、LDS 等变性剂，以及 DTT、 β -ME（BME）、TCEP 等还原剂，以避免蛋白发生变性或蛋白复合物解离。非变性 PAGE 对样品中的盐离子浓度较为敏感，建议将样品中的盐浓度尽量控制在 100 mM 以内。盐浓度过高可能导致电泳电流增大、条带拖尾或分辨率下降。

2. 电泳：

2.1 拆开预制胶包装，**撕掉底部胶条，拔掉梳子，加样孔朝下轻甩胶板**，去除胶孔中可能有的残胶，将预制胶安装在合适的电泳槽中。



注：使用 Bio-Rad Mini III、Mini-PROTEAN Tetra Cell、天能 VE-180 及六一 24K 系列电泳槽时，请注意密封条的正确安装方向（见图 1-4）。六一其他系列、君意东方 JY-SCZ2/4、百晶 BG-verMINI 等电泳槽可直接使用。本预制胶不兼容 Thermo Fisher Mini Gel Tank 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，TG130P）溶于 1 L 超纯水中并充分混匀，无需调节 pH。使用前用超纯水稀释 5 倍，配制成 1× Tris-甘氨酸电泳缓冲液。

2.3 准备上样样品：

总体积	10 μ L
蛋白样品	x μ L
5×非变性非还原蛋白上样缓冲液	2 μ L
超纯水	补至 10 μ L
	样品无需加热

2.4 电泳过程：

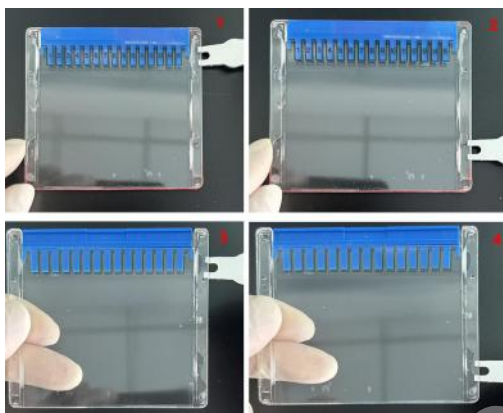
在电泳槽内槽中加入 1× Tris-甘氨酸电泳缓冲液，使缓冲液液面完全覆盖加样孔。使用 1 mL 移液器吸头轻轻冲洗加样孔 1-2 次，以去除孔内残留物；随后向外槽加入适量 1× Tris-甘氨酸电泳缓冲液。完成上样后开始电泳。

恒电压	起始电流	结束电流	电泳时间
150 V	40-30 mA/板胶	10-15 mA/板胶	60-80 min

注：恒压模式下，电流由电泳体系自动决定，并通常随电泳进行逐渐下降。建议记录起始电流和结束电流，以便监控电泳状态。**建议按照推荐电压运行。提高电压会增加凝胶及电泳缓冲液的焦耳热，可能导致蛋白条带弯曲、扩散或分辨率下降。电泳过程中如缓冲液温度明显升高，可适当降低电压或采取冷却措施。**

2.5 拆胶:

使用配套工具撬动胶板（参见示意图），小心剥下凝胶。



3. 染色:

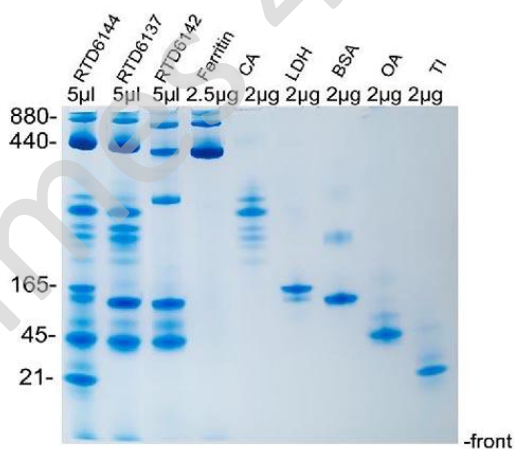
3.1 将电泳后的 PAGE 胶取出，置于合适的塑料容器中，加入适量 FastBlue 蛋白染色液，以刚好没过胶面为宜。常温摇床轻摇，对于蛋白量 $\geq 1 \mu\text{g}$ 的条带，通常 5–10 min 即可观察到明显显色。

3.2 常温摇床继续摇动 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，常温摇床摇动 10-15 分钟至背景干净。

3.4 观察、拍照并保存实验结果。

4. 实验示例:



RTD6119-0415-11 4-15% RealPAGE Precast Gel

150 V 35-11 mA 67 min

1×Tris-甘氨酸电泳缓冲液

FastBlue 蛋白染色液染色 15 分钟