



扫描二维码打开中科瑞泰官网
www.real-times.com.cn

Ver. 720458

RealPAGE plus彩色凝胶快速制备试剂盒
RealPAGE plus Color Gel Fast Preparation Kit

产品编号及规格:

货号	说明	制胶数量
RTD6132-06	6%PAGE胶	125块 0.75mm胶
RTD6132-08	8%PAGE胶	>90块 1.0mm胶
RTD6132-10	10%PAGE胶	>60块 1.5mm胶
RTD6132-12	12%PAGE胶	
RTD6132-15	15%PAGE胶	

贮存和运输:

按照标签温度贮存; 试剂盒常温运输; 有效期一年。

产品组成:

货号	名称	规格	贮存
RTD6132-UA	上层胶溶液A	80 ml	4℃
RTD6132-UB	彩色上层胶溶液B	80 ml	4℃
RTD6132-LA06	下层胶溶液A 6%	250 ml	4℃
RTD6132-LA08	下层胶溶液A 8%	250 ml	4℃
RTD6132-LA10	下层胶溶液A 10%	250 ml	4℃
RTD6132-LA12	下层胶溶液A 12%	250 ml	4℃
RTD6132-LA15	下层胶溶液A 15%	250 ml	4℃
RTD6132-LB	下层胶溶液B	250 ml	4℃
RTD6132-SP	改良型促凝剂	8 ml	4℃, 配制后-20℃

产品简介:

该产品利用聚丙烯酰胺凝胶电泳原理, 采用合理设计的预混合配方和配制流程, 可在15-30分钟内配制得到高质量的聚丙烯酰胺凝胶, 用于变性和非变性蛋白凝胶电泳。

本产品可以配制常用分离胶浓度6%, 8%, 10%, 12%和15%, 可以满足绝大多数蛋白电泳需求。本试剂盒大约可以配制60-125块常规大小(8×10cm)PAGE凝胶, 具体数量根据凝胶厚度决定: 0.75mm厚度凝胶可以配制125块胶, 1mm厚度凝胶可以配制至少90块胶, 1.5mm厚度凝胶可以配制至少60块胶。

特点:

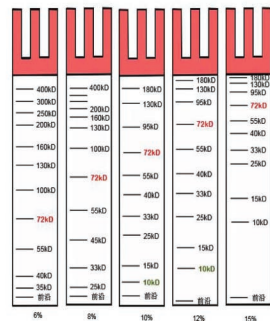
- 方便:** 彩色上层胶, 加样孔清晰, 易于上样; 上层胶和下层胶溶液1:1混合, 无需计算;
- 快速:** 如采用一步法制胶, 可以在20分钟内准备好凝胶。
- 安全:** 不用接触有毒粉末; 无需使用有异味的TEMED。
- 兼容性广:** 制胶溶液中不含SDS, 可用于非变性电泳;

使用说明:

一. 凝胶制备:

- 1.1 根据以下图表参考选择合适的凝胶浓度:

凝胶浓度	分离范围
6%	50-400kD
8%	40-300kD
10%	20-150kD
12%	15-100kD
15%	10-80kD



- 1.2 分步法凝胶配制(以一块0.75/1.0/1.5mm的小板胶为例)

- 1.2.1 取等体积下层胶溶液B和下层胶溶液A, 各2.0/2.5/4.0 ml, 混匀;
- 1.2.2 混合溶液中加入40/50/80 μl改良型促凝剂, 轻轻混匀, 将混匀后的溶液注入玻璃板中, 使液面和短玻璃板上沿之间的距离比梳齿长0.5 cm即可;
注意: 此溶液为过量, 请勿全部注入。
- 1.2.3 沿玻璃板缓慢加入适量灭菌水或无水乙醇覆盖于下层胶之上, 待下层胶凝固后, 倒去上层水或乙醇;
注意: 当水(乙醇)和胶之间有一条折射线时, 说明胶已凝固; 冬天气温低时, 聚合时间会延长。上层胶37℃ 20分钟, 25℃ 30分钟, 18℃ 40分钟可以聚合。

- 1.2.4 取等体积彩色上层胶溶液B和上层胶溶液A 各0.5/0.75/1.0 ml, 混匀;
- 1.2.5 向混合溶液中加入10/15/20 μl改良型促凝剂, 轻轻混匀, 插入梳齿;
- 1.2.6 待上层胶凝固后, 拔去梳齿即可电泳。
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。上层胶37℃ 20分钟, 25℃ 30分钟, 18℃ 40分钟可以聚合。

- 1.3 一步法凝胶配制(以一块0.75/1.0/1.5mm的小板胶为例):

- 1.3.1 取等体积下层胶溶液B和下层胶溶液A, 各2.0/2.5/4.0 ml, 混匀;
- 1.3.2 取等体积上层胶溶液B和上层胶溶液A, 各0.5/0.75/1.0 ml, 混匀;
- 1.3.3 向步骤1.3.1的混合溶液中加入40/50/80 μl的促凝剂, 轻轻混匀, 将混匀后的溶液注入制胶玻璃板中, 使液面和短玻璃板上沿之间的距离比梳齿长0.5 cm即可;
注意: 此溶液为过量, 请勿全部注入。

1.3.4 向步骤1.3.2 的混合溶液中加入10/15/20 μ l 的促凝剂, 轻轻混匀, 无需等待下层胶凝固, 即可将混匀后的溶液轻缓注入制胶玻璃板中, 插入梳齿;
注意: 灌注上层胶溶液一定要轻缓, 避免将上层胶溶液冲入下层胶; 插入梳齿前, 手指轻弹上层胶和下层胶界面可以促进界面的平整。

1.3.5 待上层胶凝固后, 拔去梳齿即可进行电泳。

注1: 凝固后上下层胶分界线平整度略弱于分步法配制的凝胶, 但对后续电泳没有影响。

注2: 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。凝胶 37 $^{\circ}$ C 20分钟, 25 $^{\circ}$ C 30分钟, 18 $^{\circ}$ C 40分钟可以聚合。

二. 电泳:

2.1 电泳缓冲液配制:

变性电泳			非变性电泳		
5 \times Tris-甘氨酸-SDS电泳缓冲液			5 \times Tris-甘氨酸电泳缓冲液		
终浓度	原料	1升	终浓度	原料	1升
0.96 M	甘氨酸	72 g	0.96 M	甘氨酸	72 g
0.125 M	Tris	15.1 g	0.125 M	Tris	15.1 g
0.5%	SDS	5 g		超纯水	定容至1升
	超纯水	定容至1升		pH	8.3-8.5
	pH	8.3-8.5			

5 \times 电泳缓冲液用前稀释5倍即配成1 \times 即用型电泳缓冲液。

2.2 样品处理:

2.2.1 非变性电泳: 融化-混合-上样

5 \times 非变性非还原蛋白上样缓冲液(Cat:PL111)常温解冻后彻底混合均匀; 将缓冲液与蛋白样品按照1:4的比例混匀, 如2 μ l 5 \times 上样缓冲液加入8 μ l蛋白样品; 样品电泳。

注: 非变性电泳样品不能加热处理。

2.2.2 变性电泳: 融化-混合-变性-上样

5 \times 蛋白上样缓冲液(变性, 还原)(Cat:PL080)常温解冻后彻底混合均匀; 将缓冲液与蛋白样品按照1:4的比例混匀, 如2 μ l 5 \times 上样缓冲液加入8 μ l蛋白样品; 将蛋白样品置于95 $^{\circ}$ C中加热5-10分钟; 蛋白样品加入凝胶加样孔内电泳。

2.3 电泳过程:

在电泳槽的内槽内加入1 \times 电泳缓冲液(让电泳缓冲液漫过加样孔), 轻轻的拔出梳子, 用1 ml吸头彻底冲洗加样孔, 随后在电泳槽外槽加入适量的1 \times 电泳缓冲液, 蛋白样品加入凝胶加样孔内电泳。

2.4 电泳条件:

变性电泳			
电压	起始电流(一板胶)	结束电流(一板胶)	时间
200 V	30-40 mA	10-20 mA	45+ min

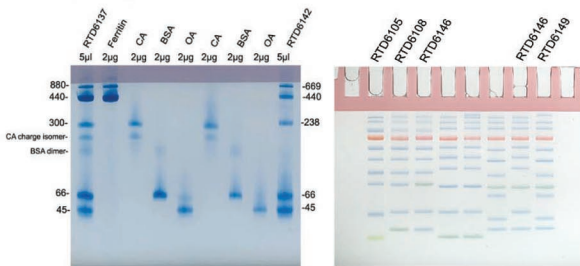
非变性电泳			
电压	起始电流(一板胶)	结束电流(一板胶)	时间
150 V	20-30 mA	10-15 mA	80+ min

三. 凝胶染色或转膜:

凝胶染色可以选择FastBlue蛋白快速染色液(Cat:RTD6202), 可以在30分钟内完成染色和脱色。

转膜缓冲液可以使用Tris-Glycine转膜液(25mM Tris, 192mM Glycine, 0.1%SDS, 20% Methanol,pH8.3)。

四. 实验示例:



8%, 非变性电泳

电压: 稳压150 V

电流变化: 25-9 mA

电泳时间: 100 分钟

染色: FastBlue染色15分钟

10%, 变性电泳

电压: 稳压200 V

电流变化: 34-16 mA

电泳时间: 45分钟

染色: 未染色

相关产品

货号	产品名称	包装
RTD6117-0008	8% RealPAGE Precast PAGE Gel(通用型)	10 gels
RTD6117-0010	10% RealPAGE Precast PAGE Gel(通用型)	10 gels
RTD6117-0012	12% RealPAGE Precast PAGE Gel(通用型)	10 gels
RTD6117-0015	15% RealPAGE Precast PAGE Gel(通用型)	10 gels
RTD6117-0415	4-15% RealPAGE Precast PAGE Gel(通用型)	10 gels
RTD6117-0420	4-20% RealPAGE Precast PAGE Gel(通用型)	10 gels
PL111-03	5 \times 非变性非还原蛋白上样缓冲液	10 \times 1ml
PL080-03	5 \times MonoColor蛋白上样缓冲液(变性, 还原)	10 \times 1 ml
PL090-03	5 \times DualColor蛋白上样缓冲液(变性, 还原)	10 \times 1ml
TG120	5 \times Tris-Glycine-SDS电泳缓冲液	500 ml
TG140P	1 \times Tris-Glycine-SDS电泳缓冲液(粉末)	10 \times 1L
RTD6202	FastBlue蛋白快速染色液	500 ml
RTD6103	低分子量蛋白Marker II (14.4-116KD)	20次
RTD6111	宽分子量蛋白Marker (10-200kD)	20次
RTD6108	三色预染宽分子量蛋白Marker (10-180KD)	50次
RTD6105	双色预染宽分子量蛋白Marker (10-170KD)	20次
RTD6146	三色预染宽分子量蛋白质Marker II(10-180kD)	50次
RTD6124	ECL发光Marker (15-95KD)	20次
RTD6151	三色预染高分子量蛋白Marker III(25-400kD)	10次