



扫描二维码打开中科瑞泰官网
www.real-times.com.cn

Ver. 730852

Blue/Clear非变性凝胶电泳试剂盒

Blue/Clear Native PAGE Electrophoresis Kit

产品编号及规格:

货号	说明	规格
RTD6139-0312	(含3-12%预制胶, 通用型)	10次
RTD6139-0416	(含4-16%预制胶, 通用型)	10次

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:

名称	规格	贮存
RTD6138-0312 3-12% RealPAGE Native BN/CN 预制胶(U型板, 通用型)	10板	4℃
RTD6138-0416 4-16% RealPAGE Native BN/CN 预制胶(U型板, 通用型)	10板	4℃
BC500P 10×BN/CN PAGE电泳缓冲液(干粉)	500 ml	RT
PL114-01 4×BN/CN-PAGE蛋白上样缓冲液	1 ml	-20℃
BC250 0.4% G-250染料(电泳用)	100 ml	4℃
BC260-01 5% G-250染料(上样用)	1 ml	4℃

产品简介:

Blue/Clear Native PAGE (BN/CN-PAGE) 由Schägger等建立的一种电泳系统, 最初被用来分离牛心脏组织中线粒体上的蛋白质复合体。由于在研究蛋白复合体上的优势, BN/CN-PAGE被用于线粒体膜、类囊体膜、质膜等膜蛋白复合体的研究。

在做植物类囊体膜的BN-PAGE电泳时, 结合叶绿素的蛋白质复合物呈绿色, 而不含叶绿素的呈蓝色, 因此又称之为蓝绿温和胶电泳。BN/CN-PAGE通常可以分离分子量10 kD-10 M kD范围的蛋白质复合物。其原理是用温和去污剂(如 DDM, digitonin)将蛋白复合体从细胞膜中以近似天然的状态分离出来, Blue Native PAGE (BN-PAGE) 是用考马斯亮蓝 G-250 代替 SDS与蛋白结合而使其带负电荷, 根据蛋白分子量不同在 PAGE胶中得到分离; Clear Native PAGE (CN-PAGE) 是电泳缓冲液中不加任何染料, 电泳中始终保持蛋白的天然电荷和活性状态, 然而, 其蛋白的分辨率要低于Blue Native PAGE。另外, BN-PAGE由于考马斯亮蓝G-250存在, 使蛋白都覆盖上负电荷, 可以分离碱性蛋白($pI > 7$); 而CN-PAGE只适合于酸性蛋白($pI < 7$)的分离。

本产品包括BN/CN-PAGE制胶的所有成分, 方便使用。可以用于分离分子量在10 kD-10M kD的蛋白复合体, 样品可以来自于胞浆、细胞总裂解液、细胞膜、线粒体膜和叶绿体膜等。电泳后可直接用于考染、银染、Western 杂交、SDS-PAGE电泳、蛋白纯化、蛋白活性检测等分析实验, 也可直接用于电洗脱制备蛋白。

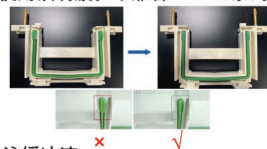
使用说明:

1. 样品制备:

该试剂盒不含样品制备的相关试剂, 样品具体制备方法参考Blue Native PAGE. Wittig I, Braun H, Schägger H. *Nature Protocols*. Vol 1, No 1, 418, 2006.

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-SC22/4, 百晶BG-verMINI等电泳槽可以直接使用预制胶。不兼容Thermo系列电泳槽。



2.2 准备电泳缓冲液:

将10×BN/CN PAGE电泳缓冲液(干粉)溶于500 ml水中, 彻底溶解, 测定pH应为7.0左右, 不要调节pH。用前稀释10倍即配成1×BN/CN PAGE电泳缓冲液。

2.2.1 CN-PAGE电泳:

阳极缓冲液(外槽)和阴极缓冲液(内槽)均直接使用1×BN/CN PAGE电泳缓冲液进行电泳。

2.2.2 BN-PAGE电泳:

阳极缓冲液(外槽)使用1×BN/CN PAGE电泳缓冲液, 阴极缓冲液(内槽)按照下表配制:

	1×蓝色阴极缓冲液 配制量 150 ml
10×BN/CN PAGE电泳缓冲液	15 ml
0.4% G-250 染料(电泳用)	0.75 ml
超纯水	定容至150 ml

2.3准备样品：
2.3.1 CN-PAGE电泳：

	总体积 10μl
蛋白样品	x μl
4×BN/CN-PAGE蛋白上样缓冲液	2.5 μl
超纯水	补至10 μl

2.3.2 BN-PAGE电泳：
注：以下以植物类囊体膜蛋白电泳为例。

	总体积 10μl
	含去垢剂样品
植物类囊体膜蛋白样品(DDM复溶)	x μl
4×BN/CN-PAGE蛋白上样缓冲液	2.5 μl
5% G-250染料（蛋白上样）	0.25-1 μl
超纯水	补至10 μl
	不要加热

含去垢剂样品中染料加入按照以下原则：
样品中G250终浓度为去垢剂终浓度的1/4。
例如样品中DM终浓度为1%，则需要G-250终浓度为0.25%。10 μl蛋白样品中需要加5% G-250染料0.5 μl。

2.4电泳过程：
2.4.1 CN-PAGE电泳：
电泳内外槽均使用1×BN/CN PAGE电泳缓冲液。在电泳槽内槽内加入1×BN/CN PAGE电泳缓冲液(让电泳缓冲液漫过加样孔)，轻轻拨出预制胶梳子，用1ml吸头冲洗加样孔，随后在电泳槽外槽加入适量的1×BN/CN PAGE电泳缓冲液，冰浴电泳。

CN-PAGE电泳（一板胶）			
恒电压	起始电流	结束电流	时间
120 V	10-15 mA	4-10 mA	50+ min

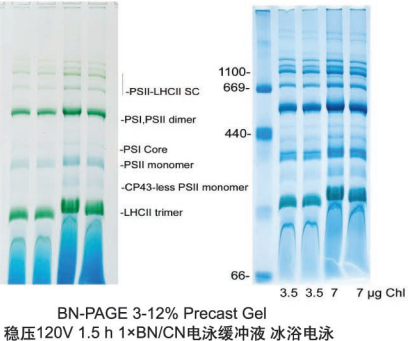
2.4.2 BN-PAGE电泳：
BN-PAGE电泳外槽使用1×BN/CN电泳缓冲液；内槽开始电泳使用的是1×蓝色阴极缓冲液，冰浴电泳，等待电泳指示前沿到达距离凝胶顶部2/3位置时，将电泳缓冲液更换为1×BN/CN电泳缓冲液，继续后续电泳，因为过多染料会影响蛋白在凝胶中的迁移以及蛋白后续的转膜实验。

BN-PAGE电泳条件（一板胶）			
恒电压	起始电流(一板胶)	电泳时间	缓冲液
120 V	8-15 mA	20-25 min	1×蓝色阴极缓冲液

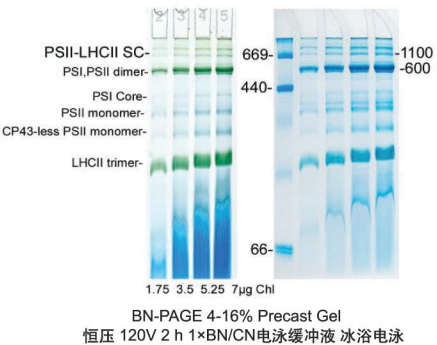
↓ 指示前沿至距离凝胶顶部三分之二处，
更换内槽缓冲液为1×BN/CN 电泳缓冲液

恒电压	继续电泳时间	结束电流	缓冲液
120 V	45 min+	3-5 mA	1×BN/CN缓冲液

3. 转膜：
BN-PAGE转膜必须用PVDF膜，不能用NC膜，因为NC膜与G-250结合非常紧密，不易去除。转膜后PVDF膜上的蓝色染料可以用无水甲醇漂洗去除。转膜缓冲液推荐使用10×BN转膜缓冲液（货号：BC600P）。
4. 染色：
4.1 将电泳后的PAGE胶取下放入塑料容器中，加入适量FastBlue蛋白染色液或常规考马斯亮蓝染色液，以刚刚覆盖过胶面为适。
4.2 摇床常温摇动，至条带清晰可见。
4.3 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。
4.4 观察保存结果。
5. 实验示例：



BN-PAGE 3-12% Precast Gel
稳压120V 1.5 h 1×BN/CN电泳缓冲液 冰浴电泳



BN-PAGE 4-16% Precast Gel
恒压 120V 2 h 1×BN/CN电泳缓冲液 冰浴电泳

发表文章：
1. [2021 IF=10.15] SIRIP1b is a global organellar RNA editing factor, required for normal fruit development in tomato plants
Author: Jinyan Li, KeruWang, Yunbo Luo, Hongliang Zhu
植物材料：西红柿线粒体蛋白
Journal: **New Phytologist** (2023) 237: 1188-1203
Institution：China Agricultural University