



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

RealPAGE®类梯度 PAGE 凝胶快速电泳试剂盒

RealPAGE® Gradient-like PAGE Gel Rapid Electrophoresis Kit

Ver.760467-2.0

货号	名称	可制胶数量
RTD6165	RealPAGE®类梯度 PAGE 凝胶快速电泳试剂盒	125 块 0.75 mm 胶 > 90 块 1.0 mm 胶 > 60 块 1.5 mm 胶

● 货品内容：

组份	组份货号	名称	规格
1	RTD6165-01	上层胶溶液（2×）	80 ml
2	RTD6165-02	红色上层胶缓冲液（2×）	80 ml
3	RTD6165-03	下层胶溶液（2×）	250 ml
4	RTD6165-04	下层胶缓冲液（2×）	250 ml
5	-	改良型促凝剂	10 ml
6	-	刻度配胶杯	6 个
6	TG200	快速电泳缓冲液（20×）	2× 500 ml
7	-	说明书	一份

● 运输、贮存及效期：

本产品常温运输；4-8℃贮存，其中配制后的改良型促凝剂贮存于-20℃；有效期一年。

● 产品特点：

分离范围广：所配制凝胶具有类似梯度胶分离能力，无需区分不同浓度下层胶；

电泳速度快：200-250 V 恒压，25-35 min 即可完成电泳；

快速制备凝胶：无需液封等待下层胶凝固，即可直接灌注上层胶，制胶更省时；

红色上层胶：可制备带颜色的上层胶，为点样和区分不同凝胶提供便利；

避免异味：无需使用 TEMED，环境安全友好；

● 产品简介：

该产品利用聚丙烯酰胺凝胶电泳原理，采用独特配方，所配制的凝胶具有类似梯度胶分离能力（10~250 kDa），低、中、高分子量蛋白可均匀分布，无需区分不同浓度下层胶；试剂盒采用上层胶和下层胶的预混配方，只需加入改良型促凝剂即可凝胶，灌入下层胶后，无需等待凝胶，直接灌入上层胶即可，简便快捷；所配的上层胶为红色，点样孔清晰易辨，方便点样。

本产品专门用于 SDS-PAGE 电泳（不适用于非变性电泳），包含全套 PAGE 凝胶制备试剂和配套电泳缓冲液，并且在 200-250 V 恒压条件下，25-35 min 即可完成电泳。

本产品配套提供改良型促凝剂，其具有更好的稳定性和催化效能，配胶过程中无需额外添加 TEMED。

本试剂盒大约可以配制 60-125 块常规大小（8×10 cm）的 PAGE 凝胶，具体数量根据凝胶厚度决定：0.75 mm 厚度凝胶可以配制 125 块胶，1.0 mm 厚度凝胶可以配制至少 90 块胶，1.5 mm 厚度凝胶可以配制至少 60 块胶。

● 使用说明：

一. 制胶前的准备：

1.1 即用型改良型促凝剂配制：

试剂盒提供的改良型促凝剂为干粉，第一次使用前加入 10 ml 超纯水，彻底溶解后使用。配制好的即用型改良型促凝剂置于 4℃ 备用，长期不用建议 -20℃ 贮存。

1.2 推荐操作：

实验前半小时，取出试剂盒所有组份，常温静置半小时使溶液恢复到常温后轻柔混匀后使用，可以有效降低制胶时产生气泡的可能性。

二. 凝胶配制(以一块 0.75/1.0/1.5 mm 厚度的 8×10cm 胶为例)：

2.1 取等体积红色上层胶缓冲液和上层胶溶液，各 0.5/0.75/1.0 ml，混匀；

注：由于染料的特殊理化性质，红色上层胶缓冲液使用前请摇匀。

2.2 取等体积下层胶缓冲液和下层胶溶液，各 2.0/2.5/4.0 ml，混匀；

2.3 向步骤 2.1 的上层胶混合溶液中加入 10/15/20 μl 改良型促凝剂，轻轻混匀。

注：加入改良型促凝剂后，需轻柔混匀，防止过多氧气混入胶溶液，抑制凝胶聚合和导致凝胶内可能产生气泡。

2.4 向步骤 2.2 的下层胶混合溶液中加入 40/50/80 μl 改良型促凝剂，轻轻混匀；将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为约 1.5 cm 或距离梳齿下沿距离为约 0.5 cm 即可；

注：此溶液为过量，请勿全部注入，可留少许于制胶杯中，便于判断凝胶状态；加入改良型促凝剂后，需轻柔混匀，防止过多氧气混入胶溶液，抑制凝胶聚合和导致凝胶内可能产生气泡。

2.5 无需等待下层胶凝固，迅速将步骤 2.3 的上层胶混合溶液左右平移缓慢轻柔注入制胶玻璃板中，插入梳齿。

注：加入下层胶混合液后，请在 1-2 分钟内灌注上层胶混合溶液，加入时一定要轻缓，避免将上层胶溶液冲入下层胶；凝固后上下层胶分界线平整度略弱于使用封闭方法配制的凝胶，但对后续电泳没有影响。

2.6 待胶凝固后拔去梳齿，用注射器或枪头吸取电泳缓冲液将加样孔冲洗干净，即可进行常规电泳操作。

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。

温度与凝胶时间参考表

环境温度	18℃	25℃	37℃
凝固时间	~20 min	~15 min	~10 min

附：凝胶配方表

表一 红色上层胶配方				表二 下层胶配方			
胶厚度	红色上层胶缓冲液	上层胶溶液	促凝剂	胶厚度	下层胶缓冲液	下层胶溶液	促凝剂
0.75 mm	0.5 ml	0.5 ml	10 μl	0.75 mm	2.0 ml	2.0 ml	40 μl
1.0 mm	0.75 ml	0.75 ml	15 μl	1.0 mm	2.5 ml	2.5 ml	50 μl
1.5 mm	1.0 ml	1.0 ml	20 μl	1.5 mm	4.0 ml	4.0 ml	80 μl

三. 电泳：

3.1 1×即用型快速电泳缓冲液配制：

	500 ml 配制量	1000 ml 配制量
快速电泳缓冲液（20×）	25 ml	50 ml
超纯水	定容至 500 ml	定容至 1000 ml

3.1.2

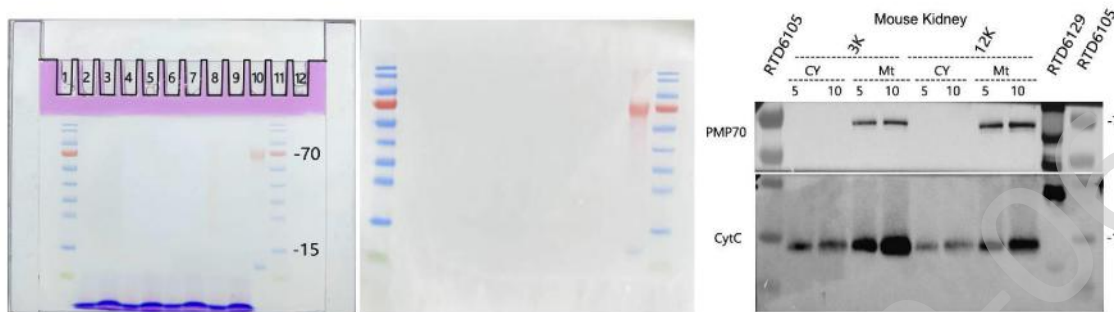
电泳缓冲液	1×即用型快速电泳缓冲液
上样缓冲液	5×蛋白上样缓冲液（变性，还原）（PL080）
电泳条件	恒压 200 V ~35 min
	恒压 250 V ~25 min

注：本产品所配制凝胶需搭配快速电泳缓冲液使用，才能得到类梯度分离蛋白的效果。

四. 凝胶染色或转膜：

- 4.1 凝胶染色可以选择 FastBlue 蛋白快速染色液(货号：RTD6202)，可以在 30 分钟内完成染色和脱色，也可以选择常规法考马斯亮蓝蛋白染色液（货号：RTD6203）。
- 4.2 转膜缓冲液可以使用湿转法或半干转方法转膜。湿转法可以使用经典 Tris-甘氨酸转膜缓冲液（货号：TB1040）或者使用 10×RealBlot 快速转膜液（货号：RT5020）。半干转转膜可以使用 5×RealBlot 快速半干转转膜缓冲液（货号：RT5030）。

五.实验示例:



RealPAGE 类梯度 PAGE 凝胶快速电泳试剂盒 (RTD6165)

凝胶: 类梯度胶一步法制胶;

电泳缓冲液: 1×快速蛋白电泳缓冲液 (TG200)

电泳条件: 恒压 200 V 37-20 mA 37 min

转膜: 1×RealBlot 免冰浴快速湿转膜液 (RT5040) 400 mA 40 min; 0.22 μm NC 膜

封闭: 快速封闭液 (WR5020) 10 min

样品: 小鼠肾脏线粒体提取 (RTD8116); CY 为胞浆, Mt 为线粒体; Mt 样品溶于贮存缓冲液中, 取 30 μl 1 μg/μl 12000 g 5 min, 沉淀中加 30 μl 1×双色蛋白上样缓冲液 (变性, 还原) (PL090); 样品 50 度 10 min, 上样 5 μl 和 10 μl, 分别为 5 μg 和 10 μg

一抗: PMP70 兔单抗 1: 2000 ; CytC 鼠单抗 1: 2000; 常温一小时;

二抗: 1: 5000 常温一小时