



中科瑞泰(北京)生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

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

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

RealPAGE Native BN/CN 预制胶(U型板,通用型,12孔)

RealPAGE Native BN/CN Precast Gels(U Type Plate,Universal,12 Wells)

● 货品规格:

| 货号 | 名称 | 分离范围 | 规格 | 保存 |
|--------------|--|-------------|-----|----|
| RTD6138-0312 | 3-12% RealPAGE Native BN/CN 预制胶 (U型板,通用型,12孔) | 30-10000 kD | 10板 | 4℃ |
| RTD6138-0416 | 4-16% RealPAGE Native BN/CN 预制胶 (U型板,通用型,12孔) | 15-1000 kD | 10板 | 4℃ |

● 产品简介:

Blue/Clear Native PAGE (BN/CN-PAGE) 是一种从生物样品(质膜,胞浆等)中分离分子量 10 kD-10000 kD 范围的蛋白质复合物的电泳技术。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入任何染料,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。

本产品可以用于分离分子量在 10 kD-10000 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。

● 运输和贮存:

本产品常温运输;凝胶 4-8℃ 贮存,不要冷冻;有效期 6 个月。

● 使用说明:

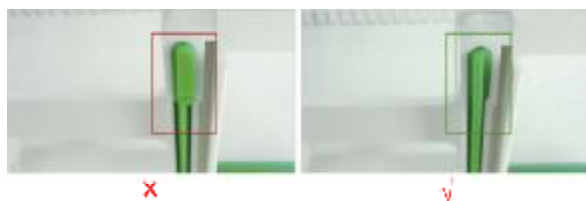
一. 样品制备:

样品具体制备方法参考 Blue Native PAGE. Wittig I, Braun H, Schagger H. *Nature Protocols*. Vol 1, No 1, 418, 2006. <https://www.nature.com/articles/nprot.2006.62>

二. 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-SCZ2/4，百晶 BG-verMINI 等电泳槽可以直接使用预制胶。不兼容 Thermol 系列电泳槽。

2.2 准备电泳缓冲液：

10×BN/CN 电泳缓冲液稀释 10 倍即配成 1×BN/CN 电泳缓冲液。

2.2.1 CN-PAGE 电泳：

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

2.2.2 BN-PAGE 电泳：

外槽缓冲液使用 1×BN/CN 电泳缓冲液，内槽缓冲液按照下表配制：

| | |
|--------------------|------------------|
| | 1×蓝色阴极缓冲液 |
| | 150 ml |
| 10×BN/CN 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 | 10 μl |
| 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 |
| | 不要加热 |

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 | 10 μl | 10 μl |
| | 含去垢剂样品* | 不含去垢剂样品 |
| 蛋白样品 | x μl | x μl |
| 4×BN/CN-PAGE 蛋白上样缓冲液 | 2.5 μl | 2.5 μl |
| 5% G-250 染料（蛋白上样） | 0.25-1 μl | 0.1 μl（终浓度 0.05%）或不加 |
| 超纯水 | 补至 10 μl | 补至 10 μl |
| | 不要加热 | 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 DDM 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。在电泳槽的内槽内加入 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 3 次，随后在电泳槽外槽加入适量的 1×BN/CN PAGE 电泳缓冲液。

| CN-PAGE 电泳 | | | |
|------------|------------|-----------|--------|
| 恒电压 | 起始电流 | 结束电流 | 电泳时间 |
| 120V | 10-15mA/板胶 | 4-10mA/板胶 | 50+min |
| 注：冰浴电泳 | | | |

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凝胶 1/3 处时，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）

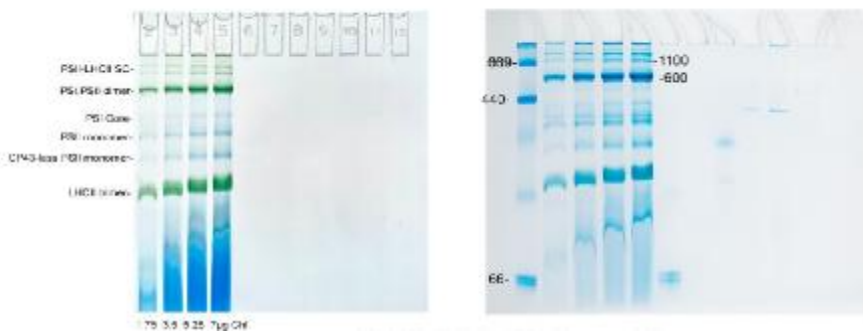
| 恒电压 | 起始电流 | 电泳时间 | 缓冲液 | |
|-------|---------|-----------|-----------|------|
| 120 V | 8-15 mA | 20-25 min | 1×蓝色阴极缓冲液 | 冰浴电泳 |



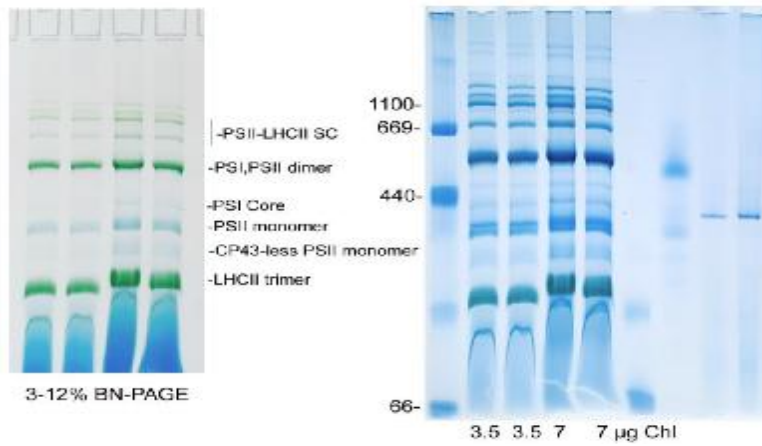
指示前沿至凝胶三分之一处，更换内槽缓冲液为 1×BN/CN 电泳缓冲液

| 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 电泳缓冲液 | 冰浴电泳 |

三. 实验示例：



BN-PAGE 3-12% Precast Gel
恒压 120V 1.5 小时 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