

## Tris-Tricine-SDS-PAGE 凝胶试剂盒套装

产品货号: T15411

产品规格: 10T (块)

### 产品简介:

常规的 Tris-SDS-PAGE 电泳只能分辨大分子蛋白,对于相对分子量小的,尤其是 10 kD 以下的蛋白分辨率极低。而 Tricine-SDS-PAGE 可以很好的分离分子量在 1-10 kD 的蛋白及多肽,成为目前电泳法变性分离多肽的主要方法。本产品包括 Tricine-SDS-PAGE 凝胶制备所需全套试剂,只需自备蒸馏水,即可制备各种浓度的高质量凝胶,方便、快捷,电泳后可直接用于考染、银染、Western 杂交等实验。

本产品配套的蛋白 Marker 包含预染的 3 种多肽和 2 种低分子量蛋白质组成,分子量范围为 3.3kD-31.0kD,可用于直接观察蛋白质电泳状况以及清晰地判断 Western Blot 的转膜效果。经 Tricine-甘油-SDS-PAGE 凝胶电泳时以及转移到 PVDF 或 NC 膜上可看到清晰的 5 条蓝色的蛋白条带。本品为蛋白质和多肽混合物的冻干粉,每种预染蛋白含量约为 40 $\mu$ g,配有一支 1 $\times$ 上样缓冲液。

本产品配套的 2 $\times$ 上样缓冲液 (含 DTT)适用于 Tricine-SDS-PAGE 电泳时作蛋白质上样用。其主要成份为 SDS,DTT,考马斯亮蓝,缓冲盐溶液等。考马斯亮蓝用作电泳时的指示剂,可大概指示电泳结束的时间。

### 试剂盒组成:

试剂	规格	保持条件
49.5%T 3%C	6mL	2-8 $^{\circ}$ C, 避光
49.5%T 6%C	20mL	2-8 $^{\circ}$ C, 避光
凝胶缓冲液	28mL	2-8 $^{\circ}$ C
50%甘油	12mL	室温
PAGE 胶凝固剂	0.1g	室温, 避光
PAGE 胶促凝剂	160 $\mu$ L	室温, 避光
2 $\times$ Tris-Tricine-SDS-PAGE 上样缓冲液 (含 DTT)	5mL	-20 $^{\circ}$ C, 避光
10 $\times$ Tris-tricine-SDS-PAGE 电泳缓冲液 (阳极)	500mL	2-8 $^{\circ}$ C
10 $\times$ Tris-tricine-SDS-PAGE 电泳缓冲液 (阴极)	500mL(干粉)	室温
预染超低分子量蛋白质 Marker (3.3kD-31.0kD)	20T(干粉)	-20 $^{\circ}$ C
1 $\times$ Loading Buffer (marker 配套上样缓冲液)	200 $\mu$ L	2-8 $^{\circ}$ C

### 使用方法:

#### 准备:

1. 本产品所提供的 PAGE 胶凝固剂为固体粉末,使用前加入双蒸水溶解即配制成 10% PAGE 胶凝固剂溶液 (0.1gPAGE 胶凝固剂加 1mL 双蒸水),将溶液分装后置于-20 $^{\circ}$ C保存,通常半年内有效。溶液在使用中可放置 4 $^{\circ}$ C保存两周。
2. 电泳缓冲液:
  - (1) 阴极缓冲液制备:取一包 10 $\times$ Tris-tricine-SDS-PAGE 电泳缓冲液 (阴极-)粉末充分溶解于 500mL 去离子水中,配成 10 $\times$ Tris-tricine-SDS-PAGE 电泳缓冲液 (阴极-)储存液,4 $^{\circ}$ C保存备用,使用前稀释 10 倍后使用。
  - (2) 阳极缓冲液制备:根据用量取适量 10 $\times$ Tris-tricine-SDS-PAGE 电泳缓冲液 (阳极-),稀释 10 倍后使用。
3. 取出蛋白 Marker,溶于 200  $\mu$ l 配套的 1 $\times$ 上样缓冲液,可根据需要进行小量分装,每管 10  $\mu$ l, -20 $^{\circ}$ C贮存,每次取一管使用,避免反复冻融。使用前取分装后的小管室温融化后即可上样电泳。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

## 制胶:

根据目的蛋白分子量大小选择合适的 PAGE 分离胶配制浓度，凝胶浓度配方参考附表。

	分离胶			夹层胶	浓缩胶
	20%/4.5mL	16.5%/4.5mL	15.5%/4.5mL	10%/2mL	4%/2mL
49.5%T 3%C	/	/	/	0.407mL	0.160mL
49.5%T 6%C	1.82mL	1.50mL	1.395mL	/	/
凝胶缓冲液	1.50mL	1.50mL	1.50mL	0.667mL	0.496mL
50%甘油	0.96mL	0.96mL	0.96mL	/	/
ddH <sub>2</sub> O	0.22mL	0.54mL	0.645mL	0.926mL	1.344mL
10% PAGE 胶凝固剂	40μL	40μL	40μL	20μL	20μL
PAGE 胶促凝剂	5μL	5μL	5μL	3μL	3μL

### I 配制分离胶

1. 将不同体积的双蒸水、49.5%T 6%C、凝胶缓冲液和甘油加入到离心管中混合。
2. 加入 10% PAGE 胶凝固剂和 PAGE 胶促凝剂，立即涡旋混匀 5-10 秒，以使溶液充分混匀。
3. 在凝胶模具中迅速灌入适量分离胶溶液（1mm mini-gel，分离胶溶液加约 4mL），然后在分离胶溶液上轻轻覆盖一层 1-3cm 的水层，使凝胶表面保持平整。
4. 静置，待分离胶和水层之间出现一个清晰的界面表示凝胶已聚合。

### II 配制夹层胶

1. 去除覆盖在分离胶上的水层，用滤纸将残留的水尽量吸去。
2. 将不同体积的双蒸水、49.5%T 3%C 和凝胶缓冲液加入到离心管中混合。
3. 加入 10% PAGE 胶凝固剂和 PAGE 胶促凝剂，立即涡旋混匀 5-10 秒，以使溶液充分混匀。
4. 将适量的夹层胶溶液迅速加至分离胶的上面（对于 1mm 的 mini-gel，夹层胶溶液加约 1mL），然后在夹层胶溶液上轻轻覆盖一层水层，使凝胶表面保持平整。
5. 静置，待夹层胶和水层之间出现一个清晰的界面表示凝胶已聚合。

### III 配制浓缩胶

1. 去除覆盖在夹层胶上的水层，用滤纸将残留的水吸去。
2. 将不同体积的双蒸水、49.5%T 3%C 和凝胶缓冲液加入到离心管中混合。
3. 加入 10% PAGE 胶凝固剂和 PAGE 胶促凝剂，立即涡旋混匀 5-10 秒，以使溶液充分混匀。
4. 将梳子插入凝胶内，避免产生气泡。
5. 待凝胶聚合后，小心地拔出梳子，以免破坏加样孔。
6. 进行电泳操作。

### IV 电泳

#### 1. 处理样品:

- (1) 请按每 20μL 蛋白样品加入 20μL 上样缓冲液的比例来使用。如果蛋白浓度过高，可用双蒸水稀释样品。
- (2) 混匀后，100°C 水浴加热 5-10 分钟，使蛋白变性。
- (3) 冷却至室温，离心数秒后，混匀再离心 30 秒取上清直接上样即可。

#### 1. 电泳:

将电泳槽放入 4°C 或冰水浴中，外槽加入 1× 阳极电泳缓冲液，内槽加入 1× 阴极电泳缓冲液，30V 预电泳 10min，将样品（已经过 Tricine 专用上样缓冲液处理）和 10uL Marker 加入点样孔后 30V 电泳 1 小时，100V 电泳至溴酚蓝到达胶底部后停止电泳，进行后续的考马斯亮蓝染色或电转。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

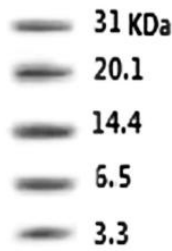
地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

Marker 电泳示意图:



#### 注意事项:

1. 10% PAGE 胶凝固剂配制后分装-20℃保存。该溶液不稳定，应尽量减少室温存放时间，每次取用后立即放回冰箱，以防失效；若发现凝胶聚合时间延长，应考虑更换。
2. 在凝胶配制过程中，尤其是液体混匀步骤，应尽量避免气泡的产生。
3. 在分离胶上层加蒸馏水时要小心操作，加水时速度不能太快。
4. Acr/Bis 和 DTT，具有一定的毒性，为了您的安全和健康，操作时请穿着实验服并佩戴一次性手套。
5. 先配制分离胶，聚合后再配制夹层胶，最后配制浓缩胶，3种胶的制胶体积比为4:1.5:1。电泳时，30V跑1-2h后，待指示前沿到达分离胶上沿时，把电压调至100V，至电泳结束，整个电泳过程大约需要6-8h。
6. 电泳之后可将胶置于固定液中固定20min，再进行染色，能得到较好的蛋白条带；如时间不允许，也可不进行固定直接染色。固定液：0.5%戊二醛，30%乙醇，用ddH<sub>2</sub>O定容至100mL。
7. 由于多肽所含的氨基酸数目较少，因此如该多肽含有过多的极性氨基酸(碱性或酸性)，则会影响其在SDS-PAGE图上的条带迁移率，即其表观分子量可能和多肽的氨基酸理论推算分子量有一定距离。
8. 由于SDS-PAGE的图谱上，蛋白质对数分子量和迁移率成正比直线关系的分子量范围为15,000-200,000，因此对于分子量小于10000的蛋白质或多肽的分子量，只能根据标准分子量进行估计，推断其是否落入预测的分子量范围。
9. 由于超低分子量多肽(3000及3000以下)，极易从凝胶上浸出，因此染色及脱色时间不宜太长，脱色后凝胶也不宜在水中浸泡保存过久，否则条带会消失。
10. 本产品仅用于科研，不能用于人体实验或人体治疗。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话:400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com