



彩色低分子量蛋白电泳试剂盒(Tricine-PAGE)

产品组成:

组分	PA335-01
上层胶溶液 A	15 mL
彩色上层胶溶液 B	15 mL
16%下层胶溶液 A	30 mL
16%下层胶溶液 B	30 mL
促凝剂	1 mL
Tricine 蛋白上样缓冲液(变性, 还原型, 2×)	3 mL
Tris/Tricine/SDS 电泳缓冲液(10×)	500 mL
考马斯亮蓝快速免脱染色液	250 mL

保存与运输: 本产品常温运输; 保存于 4°C, 其中 促凝剂 和 Tricine 蛋白上样缓冲液 需保存于 -20°C, 保质期 12 个月。

产品简介:

本产品将低分子量蛋白电泳 (多肽电泳) 所需的全套试剂汇于同一试剂盒之中, 适用于 2~20 kDa 蛋白的变性电泳。试剂盒可配制至少 10 块 PAGE 胶 (8×10 cm, 厚度为 0.75 mm 或 1 mm)。

产品特点:

- 操作便捷: 制胶无需计算所需溶液量, 无需稀释;
- 彩色上层胶: 为上样提供便利;
- 适用范围广: 凝胶不含 SDS, 也可用于非变性电泳;
- 高分辨率: 可以有效分离 2~5 kDa 多肽;
- 避免异味: 无需使用 TEMED, 避免恶臭气味;
- 方便电泳: 试剂盒配有 Tris/Tricine/SDS 电泳缓冲液, 且无需区分阳极缓冲液和阴极缓冲液。

制胶: (以配制一块 0.75/1.0 mm 厚度的 8×10 cm 凝胶为例)

	下层胶配方		
凝胶厚度	下层胶溶液 A	下层胶溶液 B	促凝剂
0.75 mm	2.0 ml	2.0 ml	40 μL
1.00 mm	2.5 ml	2.5 ml	50 μL

	上层胶配方		
凝胶厚度	上层胶溶液 A	彩色上层胶溶液 B	促凝剂
0.75 mm	0.5 ml	0.5 ml	10 μL
1.00 mm	1.0 ml	1.0 ml	20 μL

- 取等体积下层胶溶液 A 和 下层胶溶液 B, 各 2.0/2.5 mL, 混匀;
 - 向步骤 1 的混合溶液中加入 40/50 μL 的促凝剂, 混匀;
 - 将步骤 2 的混合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, 可留少许于配胶杯中, 以判断胶凝固状况), 加入适量水或醇覆盖于下层胶之上;
 - 待下层胶凝固后(约 15 min), 倒去上层水或醇;
- 注意: 当水 (醇) 和胶之间有一条折射线时, 说明胶已凝固。
- 注意: 由于染料特殊理化性质, 使用前请摇匀。取等体积上层胶溶液 A 和彩色上层胶溶液 B, 各 0.5/1.0 mL, 混匀;
 - 向步骤 5 的混合溶液中加入 10/20 μL 的促凝剂, 混匀;
 - 将步骤 6 的混合溶液注入制胶玻璃板中, 插入梳齿;
 - 待上层胶凝固后(约 15 min), 拔去梳齿即可用于电泳。



电泳:

1. 将适量 Tris/Tricine/SDS 电泳缓冲液(10×) 稀释成 1×Tris/Tricine/SDS 电泳缓冲液;
2. 将样品与 Tricine 蛋白上样缓冲液(变性, 还原型, 2×) 等体积混匀, 95°C加热 5~10 min, 加热结束后, 高速离心 5 min, 上清即可用于电泳分析;
3. 向电泳槽的内槽注满 1×Tris/Tricine/SDS 电泳缓冲液, 外槽注入适量 1×Tris/Tricine/SDS 电泳缓冲液, 轻轻拔出梳齿, 用移液器将梳孔吹洗干净, 将处理后的蛋白样品或 Marker 加入点样孔, 按以下推荐条件进行恒压电泳即可。

10% Tricine 胶, 120V, 1 h;

16% Tricine 胶, 120V, 2 h。

注意: 蛋白 Marker 需根据相应说明书进行操作。注意: 电泳结束后, 应尽快进行后续步骤, 防止多肽扩散出凝胶外。

染胶:

1. 因多肽在凝胶中易发生扩散, 建议将电泳后的 Tricine 胶在异丙醇固定液(50%异丙醇, 10%乙酸, 40%纯水)中固定 30 min 后, 再进行染色;
2. 弃去异丙醇固定液, 加入适量考马斯亮蓝快速免脱染色液(使用前请混匀), 以覆盖凝胶为宜, 室温下于水平摇床上染色 10~15 min。如蛋白量较低, 可适当延长染色时间, 实际染色时间可根据条带显现程度决定。染色结束后, 弃去染色液, 加入纯水洗涤去除残留染色液, 即可观察结果。

注意事项:

1. 本产品制备出的凝胶其上层胶对样品没有浓缩效应, 与预制胶类似, 但与传统 PAGE 胶相比, 对蛋白条带分离效果更好;
2. 不同浓度试剂盒配胶组分请勿混用, 否则会影响制胶及电泳效果;
3. 在配胶之前, 使胶溶液及缓冲液平衡到室温(如室温放置几分钟), 可有效避免凝胶中气泡的形成;
4. 考马斯亮蓝快速免脱染色液含挥发性物质, 请注意密封以避免失效, 使用前请混匀;
5. 促凝剂的使用量仅作参考, 实际用量可根据个人实验习惯和经验调整。加入较多量的促凝剂可加速凝胶, 反之亦然;
6. 凝胶速度与温度有显著的正相关性。同等条件下, 温度越高, 凝胶速度越快, 室温过高时建议适当减小促凝剂的用量; 相反, 如果室温较低, 可适当延长凝胶时间;
7. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作;
8. 本产品仅限科研使用。