



超低分子量蛋白电泳试剂盒

Ver. 710169

产品编号及规格:

RTD6120 10次

组份货号	名称	规格	贮存
RTD6120-01	2×多肽电泳浓缩胶缓冲液	15 ml	4°C
RTD6120-02	2×多肽电泳分离胶缓冲液	30 ml	4°C
RTD6120-03	2×PAA溶液 超低浓缩胶用	15 ml	4°C
RTD6120-04	2×PAA溶液 超低分离胶用	30 ml	4°C
AP020P	10% APS (干粉)	5 ml	RT
TA0761-01	TEMED	0.5ml	4°C
TP050	2×Tricine多肽上样缓冲液(变性,还原)	1 ml	-20°C
CB010P	10×Tris-Tricine-SDS缓冲液	500 ml	RT
RTD6202	FastBlue蛋白染色液	500 ml	RT

贮存、运输和效期:

按照标签温度贮存;有效期一年;试剂盒常温运输。
10% APS配成溶液后-20°C贮存。

产品简介:

本试剂盒含有超低分子量蛋白电泳(多肽电泳)全套试剂,可以用来检测1-20 kd的多肽大小。可配制至少10块常规大小的PAGE胶(8×10cm)。

具有以下特点:

- 适用范围广: 2×多肽电泳缓冲液和2×PAA溶液中不含有SDS,适用于多肽的变性和非变性电泳。
- 分辨率高: 凝胶缓冲液独特配方,可以有效分离1-5 kD多肽。
- 使用方便: 配制凝胶时只需1:1混合2×凝胶缓冲液和2×PAA溶液,加上APS和TEMED即可配制凝胶。
- 上样便利: 彩色浓缩胶,方便上样。

使用说明:

一. 10% APS配制:

将APS干粉溶于5 ml灭菌水中,彻底溶解后适量分装,-20°C备存,每次取一管使用。10% APS应尽量减少常温存放时间,以防失效。10%APS在4°C有效期为一周,-20°C有效期12个月。若发现凝胶聚合时间延长,应考虑更换使用-20度保存的10% APS。

二. 制胶:

2.1 配制分离胶:

- 2.1.1 按照表一将不同体积的成分加入到小烧杯中混合;立即混匀5-10秒,以使溶液充分混匀。

表一 (一块厚度1.0 mm 凝胶用量)

	分离胶	浓缩胶
	18%/5 ml	5%/2 ml
2×多肽电泳浓缩胶缓冲液	/	1 ml
2×多肽电泳分离胶缓冲液	2.5 ml	/
2×PAA溶液 超低浓缩胶用	/	1 ml
2×PAA溶液 超低分离胶用	2.5 ml	/
10%APS	30-50 μl	20-30 μl
TEMED	3-5 μl	2-3 μl

注:如非必须,不要使用1.5 mm厚度的凝胶,这样会增加电泳后染色和脱色的时间。

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。可以根据表一的标准条件调节催化剂的加入量。

- 2.1.2 在凝胶模具中迅速灌入适量分离胶溶液,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。

- 2.1.3 沿玻璃板缓慢加入适量无水乙醇覆盖于下层胶之上。

- 2.1.3 常温25°C静置5-10分钟,待分离胶和乙醇层之间出现一个清晰的界面表示凝胶已聚合。

2.2 配制浓缩胶:

- 2.2.1 去除覆盖在分离胶上的乙醇层,用滤纸将残留的乙醇吸去。

- 2.2.2 按照表一将不同成分加入到小烧杯中,立即混匀5-10秒,以使溶液充分混匀。

- 2.2.3 将梳子插入凝胶内,避免产生气泡。

- 2.2.4 常温25°C静置30-40分钟待凝胶聚合

三. 电泳:

- 3.1 10×Tris-Tricine-SDS缓冲液配制:

将10×Tris-Tricine-SDS缓冲液(10×TTS)粉末置于干净的烧杯中,加入500ml超纯水,彻底搅拌均匀,不要调节pH,即配成500ml 10×TTS缓冲液。电泳前,稀释10倍配成1×Tris-Tricine-SDS缓冲液。

- 3.2 样品处理:

待上样的检测样品与2×Tricine上样缓冲液等体积混合,95°C处理5分钟后上样。蛋白Marker一般已经含有上样缓冲液,根据说明书上样(预染Marker不能加热处理,非预染Marker上样前一般要95°C处理5分钟)。

背面续

使用方法:

3.3 电泳:

将电泳槽的内槽加满1×TTS缓冲液, 轻柔拔出梳子, 用1 ml移液器将梳孔吹洗干净, 将Marker或蛋白样品加入点样孔, 稳压电泳(下表), 至蓝色指示前沿至分离胶下沿位置时即可停止电泳。整个电泳过程大约需要2.5-3个小时。

恒电压	150 V
起始电流	60-75 mA/板胶
结束电流	15-25 mA/板胶
电泳时间	2.5 小时+

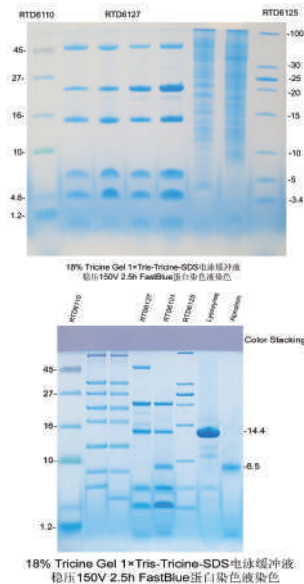
四. 染色 (FastBlue蛋白染色液):

4.1 将电泳后的PAGE胶取下放入塑料容器中, 用适量蒸馏水漂洗, 去除胶表面的SDS, 残余SDS会导致染色液出现沉淀。

4.2 弃蒸馏水, 加入适量染色液(以刚刚覆盖过胶面为适), 摇床上常温摇动, 根据下表确定染色时间。

待检测蛋白量	染色时间
>1 μg	2 分钟
100 ng-1 μg	10-20分钟
10 ng-100 ng	30-60分钟

五. 实验示例:



相关产品:

名称	货号	规格
超低分子量蛋白Marker I (3.3-22kD)	RTD6101	10次
超低分子量蛋白Marker III (3.4-100kD)	RTD6125	10次
超低分子量蛋白Marker IV (3.3-45 kD)	RTD6127	10次
彩虹预染超低分子量蛋白Marker (1.2-45kD)	RTD6110	10次
40% PAA (19:1)	AC1914	100ml
40% PAA (29:1)	AC2914	100ml
4×多肽电泳凝胶缓冲液	GB010	100ml
灭菌水	DE005	100ml
APS(干粉)	AP020	10g
10×阳极缓冲液	AB080	250ml
10×Tris-Tricine-SDS缓冲液(干粉型)	CB010P	500ml
10×Tris-Tricine缓冲液(干粉型)	CB020P	500ml
2×Tricine多肽上样缓冲液(变性, 还原)	TP050	10×1ml
2×Tricine多肽上样缓冲液(变性, 非还原)	TP060	10×1ml
FastBlue染色液	RTD6202	500ml
乙二醇	EA0582	5×25ml

参考文献:

- Schägger, H. & von Jagow, G. Tricine-sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1-100 kDalton. *Anal. Biochem.* 166, 368-379 (1987).
 - Schägger, H. Tricine-SDS-PAGE. *Nature Protocols*, 16-22 (2006)
- 发表文章:
- Garviecin LG34, a novel bacteriocin produced by *Lactococcus garvieae* isolated from traditional Chinese fermented cucumber. Yurong Gao, Dapeng Li, Shan Liu, Liyuan Zhang. *Food Control* 2015,50 ,896-900.
 - Purification and partial characterization of M1-UVs300, a novel bacteriocin produced by isolated from fermented sausage. Yu An, Ying Wang, Changqing Yu, Xue Han. *Food Control* 2017,81, 211-217.
 - The Verticillium dahliae SnodProt1-Like Protein VdCP1 Contributes to Virulence and Triggers the Plant Immune System. Yi Zhang, Yuhan Gao, Jingjing Yuan and Dewen Qiu *Frontiers in Plant Science* 31 October 2017.
 - Metal-Chelate Affinity Precipitation with Thermo-Responsive Polymer for Purification of ε-Poly-L-Lysine. Sipeng Li, Zhaoyang Ding, Jifu Liu, Xuejun Cao. *Appl Biochem Biotechnol.* May 20 2017.
 - Purification, characterization, and action mechanism of plantaricin DL3, a novel bacteriocin against *Pseudomonas aeruginosa* produced by *Lactobacillus plantarum* DL3 from Chinese Suan Tsai. Xinran Lv, Yang Lin, Hongfei Zhao, Jianrong Li. *Eur Food Res Technol.* August 02 2017.