



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

Tris-Tricine-PAGE 凝胶制备及电泳试剂盒(适用于多肽电泳)

说明书 Ver 740056

货号	名称	规格
RTD6122	Tris-Tricine-PAGE 凝胶制备及电泳试剂盒	25 次

● 产品组成:

序号	组分货号	名称	规格	贮存
1	RTD6122-01	2×浓缩胶缓冲液	20 ml	4℃
2	RTD6122-02	2×分离胶缓冲液	65 ml	4℃
3	RTD6122-03	2×浓缩胶聚合溶液	20 ml	4℃
4	RTD6122-04	2×分离胶聚合溶液	65 ml	4℃
5	AP020P	10% APS (干粉)	5 ml	常温 配制后-20℃
6	TA0761-01	TEMED	0.5 ml	常温
7	CB010P	10×Tris-Tricine-SDS 缓冲液	500 ml(干粉)	常温 配制后 4℃
8	TP050-01	2×Tricine 上样缓冲液(变性,还原)	1 ml	-20℃

● 产品简介:

该产品含有多肽电泳全套试剂,可以用来检测 2.5-20 kD 的多肽大小。本试剂盒可配制至少 25 块常规大小 (8×10cm),厚度 1 mm 的 PAGE 胶。该产品具有以下特点:

- 1 分辨率高:凝胶缓冲液独特配方,可以有效分离 2.5-5 kD 多肽;
- 2 使用方便:配制凝胶时只需 1:1 混合浓缩胶或分离胶溶液,不用计算;
- 3 易于上样:红色浓缩胶,易于观察加样孔,上样方便。

● 贮存、运输及效期:

按照标签温度贮存;常温运输;有效期一年。

● 使用说明:

一. 10%APS 溶液配制:

10% APS 为固体粉末,使用前加入 5 ml 双蒸水溶解即配制成 10% APS 溶液,将溶液分装后置于-20℃保存,通常一年内有效。该溶液在 4℃条件下可以稳定保存两周。若发现凝胶聚合时间延长,应考虑更换使用-20℃保存的 10% APS 溶液。

二. 制胶:

1. 配制分离胶:

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 1 (一块 1 mm mini 胶用量) *

	分离胶	浓缩胶
	18%T / 5 ml	5%T / 1.5 ml
2×浓缩胶缓冲液	/	0.75 ml
2×分离胶缓冲液	2.5 ml	/
2×浓缩胶用聚合溶液	/	0.75 ml
2×分离胶用聚合溶液	2.5 ml	/
10%APS 溶液	~50 μl	~15 μl
TEMED	~5 μl	1.5 μl

注：* 如非必须，不要使用厚度 1.5 mm 的凝胶，尽量使用厚度 1 mm 的凝胶，这样会减少电泳后染色和脱色的时间。

1.2 在玻璃板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：此溶液为过量，请勿全部注入。

1.3 然后在分离胶溶液上轻轻覆盖一层 1-2 cm 的无水乙醇层，使凝胶表面保持平整。

1.4 静置 10-30 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。

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。可以根据表 1 的标准条件调节促凝剂的加入量。分离胶 25℃ 条件下，约 20 分钟可以聚合。

2. 配制浓缩胶:

去除覆盖在分离胶上的乙醇层，用滤纸将残留的乙醇吸去。

2.1 按照表一将不同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。

2.2 将梳子插入凝胶内，避免产生气泡。

2.3 静置 30-50 分钟待凝胶聚合。

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。可以根据表 1 的标准条件调节促凝剂的加入量。浓缩胶 25℃ 条件下，约 40 分钟可以聚合。

三. 电泳:

3.1 变性电泳缓冲液和样品配制:

3.1.1 10×Tris-Tricine- SDS 缓冲液配制:

将 10×Tris-Tricine-SDS 缓冲液 (10×TTS) 粉末 (Cat No: CB010P) 置于一干净的烧杯中，加入 500 ml 超纯水，彻底搅拌混匀，不要调节 pH，即配成 500ml 10×TTS 缓冲液。超纯水稀释 10 倍配成 1×Tris-Tricine-SDS 缓冲液。

注：伯乐 Mini III 电泳槽一次电泳使用 300-350 ml 1×TTS 缓冲液。

3.1.2 变性样品处理:

待上样的检测样品与 2×Tricine 上样缓冲液 (变性，还原) [Cat No: TP050] 等体积混合，95℃ 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℃ 处理 5 分钟)。

3.2 非变性电泳缓冲液配制和样品配制:

3.2.1 10×Tris-Tricine 缓冲液配制:

将 10×Tris-Tricine 缓冲液 (10×TT) 粉末 [Cat No: CB020P] (试剂盒不提供) 置于一干净的烧杯中，加入 500 ml 超纯水，彻底搅拌混匀，不要调节 pH，即配成 500 ml 10×TT 缓冲液。超纯水稀释 10 倍配成 1×Tris-Tricine 缓冲液。

注：伯乐 Mini III 电泳槽一次电泳使用 300-350 ml 1×TT 缓冲液。

3.2.2 非变性样品处理:

待上样的检测样品与 2×Tricine 上样缓冲液 (非变性，非还原) [Cat No: TP070] (试剂盒不提供) 等体积混合，不要加热，直接上样。

3.3 电泳:

将电泳槽的内槽加满电泳缓冲液，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 (表 2)，至蓝色考马斯亮蓝指示前沿至分离胶下沿位置时可停止电泳。整个电泳过程大约需要 2.5-3 个小时。

表 2 多肽电泳条件

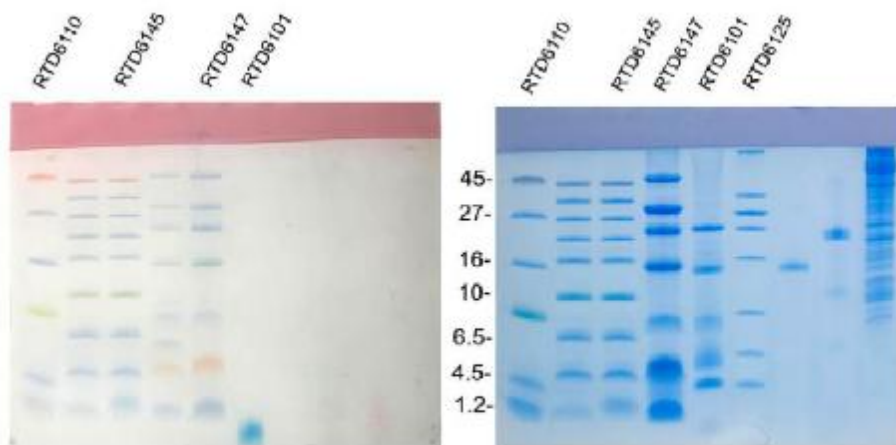
恒电压	150 V
起始电流	60-75 mA/板胶
结束电流	15-25 mA/板胶
电泳时间	2.5-3 小时

注：稳压电泳，电流不用调节，记录电流数值在推荐范围内，电泳过程中电流会逐渐降低。

四. 染色:

凝胶可以使用常规考马斯亮蓝染色液和脱色液进行染色和观察。需要注意的是,常规染色和脱色方法需要较长时间,小肽由于长度较短,和凝胶结合不紧密,长时间在溶液中浸泡容易从凝胶中脱离。常规染色和脱色时效果不好或考虑其毒性,请选择本公司的 **FastBlue** 蛋白染色液 (Cat No: RTD6202),该产品除具有染色快,无毒,灵敏性高等特点外,还能对小肽在染色中起到固定作用,不至于小肽在染色和脱色中从凝胶中脱离,是常规染色液的理想替代品。

五. 实验示例:



RTD6122 Tris-Tricine-PAGE 凝胶制备及电泳试剂盒

1×TTS 150V 64-35mA 100min