

## Tris-Tricine-SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒

货号：AC13368

规格：25 块/50 块/100 块 PAGE 凝胶

产品内容：

	25T	50T	100T	保存条件
49.5%T 3%C	15ml	30ml	60ml	2-8℃，避光
49.5%T 6%C	50ml	100ml	2×100ml	2-8℃，避光
凝胶缓冲液	70ml	2×70 ml	4×70 ml	2-8℃
50%甘油	30ml	60ml	120ml	室温
PAGE 胶凝固剂	0.25g	0.5g	1.0g	室温
PAGE 胶促凝剂	400ul	750ul	1.5ml	室温，避光

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（0.5g PAGE 胶凝固剂加 5ml 双蒸水），将溶液分装后置于-20℃保存，通常半年内有效。溶液在使用中可放置 4℃保存两周。

**产品简介：**

常规的 Tris-SDS-PAGE 电泳的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，即可制备高质量各种浓度的凝胶，方便、快捷，电泳后可直接用于考染、银染、Western 杂交等实验。

**注意事项：**

- 1、10% PAGE 胶凝固剂配制后分装-20 度保存。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，使用-20 度保存的 10% PAGE 胶凝固剂。
- 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 具有神经毒性，操作时请穿着实验服并佩戴一次性手套。
- 5、本产品仅用于科研，不能用于人体实验或人体治疗。

**配胶说明：**

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	40 μl	40 μl	40 μl	20 μl	20 μl
PAGE胶促凝剂	5 μl	5 μl	5 μl	3 μl	3 μl

## 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（1 mm mini-gel，分离胶溶液加约 4 ml ），然后在分离胶溶液上轻轻覆盖一层 1-3 cm 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

去除覆盖在分离胶上的水层，用滤纸将残留的水尽量吸去。

- 1、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。
- 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、将适量的夹层胶溶液迅速加至分离胶的上面（对于 1 mm 的 mini-gel，夹层胶溶液加约 1 ml ），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。
- 4、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

去除覆盖在夹层胶上的水层，用滤纸将残留的水吸去。

- 1、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。
- 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、将梳子插入凝胶内，避免产生气泡。
- 4、待凝胶聚合后，小心地拔出梳子，以免破坏加样孔。
- 5、进行电泳操作。

## IV 电泳

将电泳槽放入 4℃或冰水浴中，外槽加入阳极缓冲液(T1225)，内槽加入阴极缓冲液(T1215)，30V 预电泳 10min，将样品（已经过 Tricine 专用上样缓冲液 P1325 处理）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。