Tricine-SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒

产品简介:

聚丙烯酰胺凝胶电泳(polyacrylamide gel electrophoresis，PAGE)原理在于聚丙烯酰胺凝胶为网状结构，具有分子筛效应，它有两种形式：非变性聚丙烯酰胺凝胶及变性聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)，两种聚丙烯酰胺凝胶电泳在操作上基本上是相同的，只是非变性聚丙烯酰胺凝胶的配制和电泳缓冲液中不能含有变性剂如 SDS 等，在电泳的过程中蛋白质能够保持完整状态，并依据蛋白质的分子量大小、蛋白质的形状及其所附带的电荷量而逐渐呈梯度分开，主要用于分离某种特定的有生物学活性的成分；SDS-PAGE 使用变性剂 SDS 使蛋白溶解、变性并带上大量负电荷，每微克蛋白质结合 SDS 的量是一定的，这样就使每单位质量蛋白质有一定的电荷密度，因此可以根据多肽链的分子质量进行分离。常规 SDS-PAGE 凝胶电泳适用于分离大分子蛋白，对于小分子量的蛋白或多肽，分辨率大大降低，则需要用 Tris-Tricine 缓冲液系统电泳。

Tricine -SDS -PAGE 电泳能够较好的分离 10KD 以下的蛋白或多肽，是电泳 法分离多肽的主要方法，Gel Buffer 含有 pH 值为 8.45 的 Tris-HCl 缓冲液和 SDS，30T 一般可以配制 30～35 块胶，具体配制的量应根据器具大小决定，电泳分离后可直接考马斯亮蓝染色 、银染等。该试剂仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

编号 / 名称	GCPE0019 30T	GCPE0019 150T	Storage
试剂(A): 49.5%T 3%C	20ml	100ml	4℃
试剂(B): 49.5%T 6%C	60ml	300ml	4℃
试剂(C): Gel Buffer	90ml	450ml	4℃
试剂(D): Glycerol	20ml	100ml	RT
试剂(E): Ammonium Persulfate	0.3g	2×1g	RT
试剂(F): TEMED	2ml	2×5ml	4℃
使用说明书		1 份	

操作步骤(仅供参考):

1、 配制 10%过硫酸铵(APS)：直接在 0.3g Ammonium Persulfate 中加入 3ml 蒸馏水(1g 每瓶加入 10ml 蒸馏水)，充分溶解，分装成小份储存于-20℃或 4℃。

2、 按照附表配制分离胶，根据目的蛋白分子量大小选择合适的凝胶浓度：

①将不同体积的蒸馏水、49.5%T 6%C、Gel Buffer、Glycerol 加入到离心管中并充分混合。

②加入 10%APS 和 TEMED，立即涡旋混匀 5～10s，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。

3、按照附表配制夹层胶：

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将不同体积的蒸馏水、49.5%T 3%C 和 Gel Buffer 加入到离心管中混合。

③加入 10%APS 和 TEMED，立即涡旋混匀 5～10s，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 1～2cm 的水层，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。

4、按照附表配制浓缩胶：

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 Gel Buffer 加入到离心管中混合。

③加入 10%APS 和 TEMED，立即涡旋混匀 5～10s，以使溶液充分混匀。

④将梳子插入凝胶内，避免产生气泡。

⑤静置，待凝胶聚合后，小心地拔出梳子，避免破坏加样孔，进行电泳操作。

5、电泳：将电泳槽置于 4℃或冰水浴中，外槽加入阳极缓冲液，内槽加入阴极缓冲液，30V 预电泳 10 min，将处理好的样品加入点样孔，30V 电泳 1h，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。可选购 Leagene Tris-Tricine 阳极缓冲液(5×,pH8.9)(货品编号：PE0085)和 Tris-Tricine 阴极缓冲液(5×)(货品编号：PE0086)。

附表 Tricine-SDS-PAGE 凝胶配方表

成分	分离胶			夹层胶	浓缩胶
浓度/体积	20%/4.5ml	16.5%/4.5ml	15.5%/4.5ml	10%/2ml	4%/2ml
49.5%T 3%C	—	—	—	0.407ml	0.16ml
49.5%T 6%C	1.82ml	1.5ml	1.395ml	—	—
Gel Buffer	1.5ml	1.5ml	1.5ml	0.667ml	0.496ml
Glycerol	0.48ml	0.48ml	0.48ml	—	—
蒸馏水	0.7ml	1.02ml	1.125ml	0.926ml	1.344ml
10%APS	40μl	40μl	40μl	20μl	20μl
TEMED	5μl	5μl	5μl	3μl	3μl

注意事项：

1、过硫酸铵配制成 10%溶液分装后-20℃保存，应尽量减少室温存放时间以防失效，取出的 APS 溶液可短期 4℃保存，有效避免失效的方法是分成小份，即一般用 1.5ml EP 管分装成 0.5～1ml/支，-20℃保存，每支使用 2～3 次即弃用。

2、TEMED 极易挥发，使用后请盖紧瓶盖 4℃保存，另外凝胶凝聚的速度和温度及光照关系密切，可通过适当调节 TEMED 的用量，控制在不同的室内环境下凝胶凝聚的速度。

3、配制聚丙烯凝胶的过程中如果冬天室温较低情况下，上下层胶出现白色沉淀是正常现象，可以置于 37℃水浴锅溶解后使用；冬天气温较低，分离胶凝固较慢，可将胶板置于空调下加速凝固。

4、在分离胶上层加蒸馏水时要缓慢，速度不宜过快。

5、49.5%T 3%C 和 49.5%T 6%C 为不同比例的 Acr-Bis，有神经毒性，请小心操作，长期使用置于 4℃有助于其性能的稳定。

6、如需测定大分子蛋白可选购 SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒(货品编号： PE0018)或 SDS-PAGE 凝胶快速配制试剂盒(货品编号：PE0017)。

7、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：6 个月有效；4℃运输，4℃保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
GCPE0017	SDS-PAGE 凝胶快速配制试剂盒
GCPE0103	Acr-Bis(30%,29:1)
GCPE0085	Tris-Tricine 阳极缓冲液(5×,pH8.9)
GCPE0086	Tris-Tricine 阴极缓冲液(5×)
GCPE0157	TEMED
GCPI0011	苯甲基磺酰氟溶液(PMSF,100mmol/L)
GCPS0013	RIPA 裂解液(强)
GCPT0001	BCA 蛋白定量试剂盒
GCPT0027	蛋白快速银染试剂盒
GCPW0040	Western blot 一抗稀释液
GCPW0082	丽春红 S 染色液(1×Ponceau S)
GCPW0072	DAB 辣根过氧化物酶显色试剂盒