



Tris-Tricine-SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒

货号 : D16815

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 ₂ O | 0.22ml | 0.54ml | 0.645ml | 0.926ml | 1.344ml |
| 10% PAGE胶凝固剂 | 40μl | 40μl | 40μl | 20μl | 20μl |
| PAGE胶促凝剂 | 5μl | 5μl | 5μl | 3μl | 3μl |

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。