

一站式 Tricine-SDS-PAGE 电泳套装

One-Stop Tricine-SDS-PAGE Pack

使用手册 V2.5

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

产品及特点	Tricine-SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(Tricine-SDS-PAGE)是目前电泳法变性分离多肽的主要方法，但是单独配制各种溶液十分繁琐，为此天泽基因开发了本产品。它具有下列特点： 1. 一站式，提供除水和样品以外的所有成分。 2. 即开即用，用户不需单独准备各种成分，十分方便。 3. 安全，免去了实验人员接触粉末状的剧毒物品丙烯酰胺。 4. 电泳后可直接用于考染、银染、Western 杂交等实验。		
规格及成分	成 份	编 号	大纸盒包装
	丙烯酰胺/甲叉双丙烯酰胺干粉(19:1)	81205a	60 g/3g (250mL 棕色瓶)
	Tricine-SDS-PAGE 配胶液，3×	81225	250 mL
	50%甘油	82105b	25 mL
	TEMED	100880	1.5 mL(棕色管)
	过硫酸铵	100879	1 g
	Tricine-SDS-PAGE 上样缓冲液，2×	81213	1 mL×5
	Tricine-SDS-PAGE 阳极电泳液（干粉）	81214	10 L (250mL 瓶)
	Tricine-SDS-PAGE 阴极电泳液（干粉）	81226	10 L (塑料+热封袋)
	使用手册	81205sc	1 份
运输及保存	常温运输和保存（上样液需要-20℃保存），保存期为一年。		
自备试剂	Milli-Q 纯水或同等级别的去离子水、水饱和的异丁醇		
使用方法	本公司强烈推荐在分离多肽时使用由 4%浓缩胶、10%隔离胶和 16%分离胶从上到下组成的三层 Tricine-SDS-PAGE 胶，下面为配制该胶的流程。如果用户不需要隔离胶或需要调整各种胶的浓度，请按比例修改。 1. 配制 30%丙烯酰胺-甲叉双丙烯酰胺溶液（19： 1）(丙烯酰胺-甲叉双丙烯酰胺溶液简称 AB 溶液，下同)：直接在装有 60 克丙烯酰胺和 3 克甲叉双丙烯酰胺的瓶中加入 140 mL 自备的去离子水,拧紧瓶盖后 37℃水浴，其间颠倒摇晃多次，直到干粉全部溶解，得到 30% AB 溶液（19： 1），该溶液最好 4℃避光保存，在一个月内用完。AB 溶液具有神经毒性，一定要戴手套操作。 2. 配制 10%的 APS（过硫酸铵）：按每 0.1 克过硫酸铵干粉加 1 mL 去离子水的比例将去离子水加到装有硫酸铵干粉的 1.5 mL EP 管中，摇晃到粉末全部溶解。配制好的 10%的 APS 溶液可在 4℃存放一周。过硫酸铵极		

其容易吸潮，没用完的过硫酸铵一定要拧紧盖子。如果吸潮，可用自备的分析纯过硫酸铵替代。

3. 配制 30 mL 16%分离胶和 9 mL 10%隔离胶（足够灌两块 0.75 mm×14 cm×14 cm 胶）。

A) 标记 2 个 50 mL 的三角瓶，按下表的用量加入各成分：

成份	分离胶瓶	隔离胶瓶
30% AB 溶液（19：1）	16.0 mL	3.0 mL
Tricine-SDS-PAGE 配胶液，3×	10.0 mL	3.0 mL
50%甘油	3.2 mL	无
去离子水	0.8 mL	3.0 mL
总体积	30 mL	9 mL

B) 混匀后真空脱气 10-15 分钟。

C) 灌分离胶：在分离胶瓶中加入 150 uL 10%的 APS 溶液和 30 uL TEMED 溶液，轻轻旋转混匀。用吸管将分离胶溶液沿着一个隔条的边缘加到玻璃板夹层中，直到溶液的高度距离玻璃上沿还有 5 cm。由于分离胶比重比隔离胶大，故可在其凝固前直接灌隔离胶。

D) 灌隔离胶：在隔离胶瓶中加入 75 uL 10%的 APS 溶液和 15 uL TEMED 溶液，轻轻旋转混匀。用吸管将积层胶溶液缓缓地沿着一侧隔条边缘加入到玻璃平板夹层中，直到溶液离玻璃板顶部约 3 cm 高为止。

E) 盖 1cm 高的自备水饱和的异丁醇使胶面跟氧气隔绝（氧气会抑制胶的凝固；此处水饱和的异丁醇可用水代替，但效果会差一些）。让分离胶和隔离胶在室温聚合 30-45 分钟。

4. 配制 9 mL 4%浓缩胶（足够灌两块 0.75 mm×14 cm×14 cm 胶）。

A) 在一个 50 mL 的三角瓶中，先按下表的用量加入各成分：

成份	用量
30%AB 溶液（19：1）	1.2 mL
Tricine-SDS-PAGE 配胶液，3×	3.0 mL
补去离子水到 9 mL	需加 4. 8 mL

B) 混匀后真空脱气 10-15 min。

C) 将 75 uL 新鲜配制的 10%的过硫酸铵溶液和 15 uL TEMED 溶液加入到溶液中，轻轻旋转混匀。用吸管将积层胶溶液缓缓地沿着一侧隔

	条边缘加入到玻璃平板夹层中，直到夹层中的溶液离玻璃板顶部约 1 cm 高为止。 D) 插入 0.75 mm 厚的塑料梳子，再补加浓缩胶溶液填满梳子间的空隙。 注意避免产生气泡。让浓缩胶在室温聚合 30-45 分钟。 5. 小心拔出塑料梳子，在上层缓冲槽中加入 1×Tricine-SDS-PAGE 阴极电泳液(下称阴极电泳液)，并用 1×阴极电泳液冲洗加样孔。注：本产品提供 10 升的阴极电泳液干粉，将所有干粉溶解在 600-800 mL 去离子水中，最后定容到 1000 mL 即得 10×阴极电泳液，可以室温放置，不需要灭菌，用时再用去离子水稀释 10 倍成 1×阴极电泳液。 6. 在电泳装置的下层缓冲液槽中加入 1×Tricine-SDS-PAGE 阳极电泳液(下称阳极电泳液)。注：本产品提供 10 升的阳极电泳液干粉，将所有干粉溶解在 600-800 mL 去离子水中，用自备的浓盐酸调 pH 到 8.9(25℃)后定容到 1000 mL 即得 10×阳极电泳液，灭菌后可以 4℃长期放置。用时再用去离子水稀释 10 倍成 1×阳极电泳液。 7. 在密封的螺盖微量离心管中，用 2×Tricine-SDS-PAGE 上样缓冲液按 1:1 的比例稀释蛋白样品，于 100℃煮沸 3-5 分钟。注意：如果样品是蛋白沉淀物，则加入 50-100 uL 新配的 1×Tricine-SDS-PAGE 上样缓冲液溶解；如果样品是蛋白稀溶液，可先浓缩蛋白质。与 Tricine-SDS-PAGE 上样缓冲液混合后的样品如未经 100℃加热灭活蛋白酶，切勿放于室温。 8. 上样。如果用考马斯亮蓝染色，对于成分复杂的蛋白质样品，上样量最好为 20 uL (含 25-50 ug 总蛋白质)；对于只有一种或几种蛋白质的样品，上样量最好为 1-10 uL。如果用银染，上样量可减少 10-100 倍。 9. 电泳。先 30 V 恒压电泳 1 h (对 0.75mm×14cm×14cm 的胶而言)，然后 150 V 恒压电泳 4-5 h。注：本产品的 Tricine-SDS-PAGE 上样液使用了考马斯亮蓝 G-250 作为指示剂，其泳动速度比最小的肽还快。 10. 终止电泳，取出凝胶进行后续的实验处理（最好用银染染色，节约样品）。注意：考染或银染时，基本步骤同蛋白 PAGE 胶染色，只是任何一步（尤其是固定步骤）的处理时间都不要超过 20 分钟，否则多肽非常容易扩散出 PAGE 胶而降低检测的灵敏度。
关联产品	超快蛋白银染试剂盒 (CAT#: 100607), 质谱兼容型蛋白银染试剂盒 (CAT#: 100811)