

Tricine-PAGE凝胶快速制备试剂盒

Color Tricine-PAGE Gel Rapid Preparation Kit

本产品常温运输；保存于4℃，其中 改良型促凝剂 需保存于-20℃，保质期18个月。

货号规格

货号	下层胶浓度	规格(1 mm凝胶)
PG310P	10%	50次
PG311P	16%	50次

注：目的蛋白分子量≥5 kDa，选用PG310P；
目的蛋白分子量<5 kDa，选用PG311P。

产品内容

组分	规格
上层胶溶液(2×)	50 mL
彩色上层胶缓冲液(2×)	50 mL
下层胶溶液(2×)	150 mL
下层胶缓冲液(2×)	150 mL
改良型促凝剂	8mL

产品简介

本产品可配制 50 块 Tricine-PAGE 胶 (8×10 cm，厚度为1 mm)，适用于 2~20 kDa 蛋白的Tricine体系电泳，其具有以下特点：

- 操作便捷 — 制胶无需计算所需溶液量，无需稀释；
- 彩色上层胶 — 为上样提供便利；
- 适用范围广 — 凝胶不含SDS，也可用于非变性电泳；
- 高分辨率 — 可以有效分离2~5 kDa多肽(PG311P)；
- 避免异味 — 无需使用TEMED，避免恶臭气味；
- 方便电泳 — 本产品需配套 Tris/Tricine/SDS电泳缓冲液 (货号：PS122) 使用，无需区分阳极缓冲液和阴极缓冲液。

本试剂盒提供的 改良型促凝剂 具有更好的稳定性和催化效能，为方便操作，已开盖的 改良型促凝剂 可置于 4℃ 保存至少三个月。

操作步骤

制胶(以配制一块0.75/1.0 mm厚度的8×10 cm凝胶为例)

- 取等体积 下层胶溶液 和 下层胶缓冲液，各2.0/2.7 mL，混匀；
- 向步骤1的混合溶液中加入40/60 μL 的 改良型促凝剂，混匀；
- 将步骤2的混合溶液注入制胶玻璃板中，使液面和短玻璃板上沿之间的距离比梳齿长0.5 cm即可(注意：此溶液为过量，请勿全部注入，可留少许于配胶杯中，以判断胶凝固状况)，加入适量水或醇(如异丙醇、正丁醇等)覆盖于下层胶之上；
- 待下层胶凝固后(约15 min)，倒去上层水或醇；
注意：当水(醇)和胶之间有一条折射线时，说明胶已凝固。
- 取等体积 上层胶溶液 和 彩色上层胶缓冲液，各0.5/0.75 mL，混匀；
注意：由于染料特殊理化性质，使用前请摇匀。
- 向步骤5的混合溶液中加入10/15 μL 的 改良型促凝剂，混匀；
- 将步骤6的混合溶液注入制胶玻璃板中，插入梳齿；
- 待上层胶凝固后(约15 min)，拔去梳齿即可用于电泳。



下层胶配方				上层胶配方			
凝胶厚度	下层胶溶液	下层胶缓冲液	改良型促凝剂	凝胶厚度	上层胶溶液	上层胶缓冲液	改良型促凝剂
0.75 mm	2.0 mL	2.0 mL	40 μ L	0.75 mm	0.5 mL	0.5 mL	10 μ L
1.00 mm	2.7 mL	2.7 mL	60 μ L	1.00 mm	0.75 mL	0.75 mL	15 μ L

电泳

1. 将适量 **Tris/Tricine/SDS电泳缓冲液(10 $\times$)** (货号:PS122) 稀释成1 $\times$ Tris/Tricine/SDS电泳缓冲液;
2. 将样品与 **Tricine蛋白上样缓冲液(变性, 还原型, 2 $\times$)** (货号:LT104) 等体积混匀, 95 $^{\circ}$ C加热5~10 min, 加热结束后, 高速离心5 min, 上清即可用于电泳分析;
注意: 蛋白 Marker 需根据相应说明书进行操作。
3. 向电泳槽的内槽注满 1 $\times$ Tris/Tricine/SDS 电泳缓冲液, 外槽注入适量 1 $\times$ Tris/Tricine/SDS 电泳缓冲液, 轻轻拔出梳齿, 用移液器将梳孔吹洗干净, 将处理后的蛋白样品或 Marker 加入点样孔, 按以下推荐条件进行恒压电泳即可。
10% Tricine 胶, 120 V, 1 h;
16% Tricine 胶, 120 V, 2 h。
注意: 电泳结束后, 应尽快进行后续步骤, 防止多肽扩散出凝胶外。

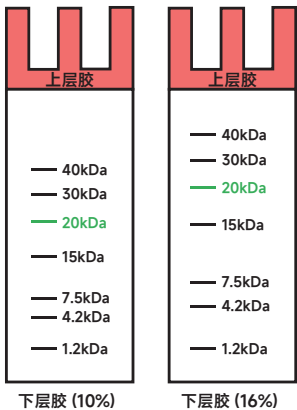
染胶

1. 因多肽在凝胶中易发生扩散, 建议将电泳后的Tricine胶在异丙醇固定液(50%异丙醇, 10%乙酸, 40%纯水)中固定30 min后, 再进行染色;
2. 弃去异丙醇固定液, 加入适量 **考马斯亮蓝快速染液(免脱色)** (货号:PS111), 以覆盖凝胶为宜, 室温下于水平摇床上染色10~15 min。如蛋白量较低, 可适当延长染色时间, 实际染色时间可根据条带显现程度决定。染色结束后, 弃去染色液, 加入纯水洗涤去除残留染液, 即可观察结果。

注意事项

1. 本产品制备出的凝胶其上层胶对样品没有浓缩效应, 与预制胶类似, 但与传统PAGE胶相比, 对蛋白条带分离效果更好;
2. 不同浓度试剂盒配胶组分请勿混用, 否则会影响制胶及电泳效果;
3. 改良型促凝剂的使用量仅作参考, 实际用量可根据个人实验习惯和经验调整。加入较多量的促凝剂可加速凝胶, 反之亦然;
4. 凝胶速度与温度有显著的正相关性。同等条件下, 温度越高, 凝胶速度越快, 室温过高时建议适当减小改良型促凝剂的用量; 相反, 如果室温较低, 可适当延长凝胶时间;
5. 在配胶之前, 使胶溶液及缓冲液平衡到室温(如室温放置几分钟), 可有效避免凝胶中气泡的形成;
6. 考马斯亮蓝快速染液(免脱色)含挥发性物质, 请注意密封以避免失效;
7. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作;
8. 本产品仅限科研使用。

凝胶浓度
选择参考



左图为 Tris-Tricine 缓冲系统中, 蛋白分子量标准 (货号: WJ402, 1.2~40 kDa, 含有 7 条蛋白条带在不同浓度的 Tricine-SDS-PAGE 凝胶中的分离示意图。因温度、pH 值等因素不同, 实际分离情况会略有出入, 本图仅供参考。