

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°C，其中改良型促凝剂需保存于-20°C，保质期12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 \geq 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 \times)	50 mL
彩色上层胶缓冲液(2 \times)	50 mL
下层胶溶液(2 \times)	150 mL
下层胶缓冲液(2 \times)	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 \times 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°C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 \times 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 μ L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：由于染料的特殊理化性质，使用前请摇匀。
- 向步骤5的混合溶液中加入10/15 μ L的改良型促凝剂，混匀；



雅酶®

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途
技术支持：400-0588-030 info@epizyme.cn

7. 将步骤6的混合溶液注入制胶玻璃板中，插入梳齿；
8. 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。

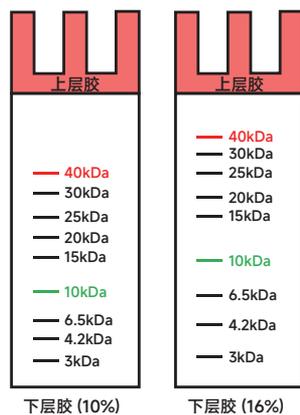
染胶

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份请勿混用，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：WJ401，3~40 kDa，含有 9 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。