

一体化低分子量蛋白电泳试剂盒(Tricine-PAGE)

All-in-One Tricine-PAGE Kit

本产品常温运输；保存于4℃，其中 改良型促凝剂 和 Tricine蛋白上样缓冲液 需保存于-20℃，保质期12个月。

货号规格

货号	下层胶浓度	规格(0.75 mm或1 mm凝胶)
PG310	10%	≥10次
PG311	16%	≥10次

注：目的蛋白分子量≥5 kDa，选用PG310；
目的蛋白分子量<5 kDa，选用PG311。

产品内容

组分	规格
上层胶溶液(2×)	15 mL
彩色上层胶缓冲液(2×)	15 mL
下层胶溶液(2×)	30 mL
下层胶缓冲液(2×)	30 mL
改良型促凝剂	1 mL
Tricine蛋白上样缓冲液(变性，还原型，2×)	3 mL
Tris/Tricine/SDS电泳缓冲液速溶颗粒(500 mL)	10袋
考马斯亮蓝快速染液(免脱色)	250 mL

产品简介

本产品将低分子量蛋白电泳（多肽电泳）所需的全套试剂汇于同一试剂盒之中，适用于 2~20 kDa 蛋白的变性电泳。试剂盒可配制至少 10 块 PAGE 胶（8×10 cm，厚度为 0.75 mm 或 1 mm），并具有以下特点：

- 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(PG311)；
- 避免异味 – 无需使用TEMED，避免恶臭气味；
- 方便电泳 – 试剂盒配有 Tris/Tricine/SDS电泳缓冲液速溶颗粒，且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；



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 μL	0.75 mm	0.5 mL	0.5 mL	10 μL
1.00 mm	2.7 mL	2.7 mL	60 μL	1.00 mm	0.75 mL	0.75 mL	15 μL

电泳

1. 将 **Tris/Tricine/SDS电泳缓冲液速溶颗粒** 配制成为1×Tris/Tricine/SDS电泳缓冲液，具体操作方法如下：
- ① 将大约 300 mL 蒸馏水倒入烧杯，并向其中缓慢加入1袋 **Tris/Tricine/SDS电泳缓冲液速溶颗粒**，搅拌溶液直至颗粒完全溶解；
- ② 向步骤①所得溶液中加入蒸馏水，定容至500 mL，即为1×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×)** 等体积混匀，95℃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×Tris/Tricine/SDS 电泳缓冲液，外槽注入适量 1×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，120V，1 h；
- 16% Tricine 胶，120V，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。

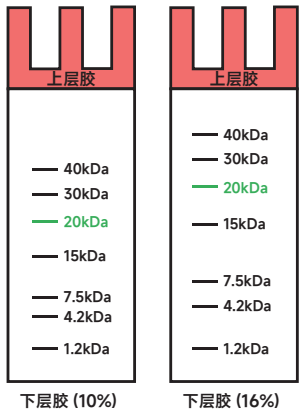
染胶

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)**，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。