

## Tricine-SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒

### 简介：

聚丙烯酰胺凝胶电泳(Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gelelectrophoresis, SDS-PAGE)原理在于聚丙烯酰胺凝胶为网状结构，具有分子筛效应。它有两种形式：非变性聚丙烯酰胺凝胶及 SDS-聚丙烯酰胺凝胶；非变性聚丙烯酰胺凝胶，在电泳的过程中，蛋白质能够保持完整状态，并依据蛋白质的分子量大小、蛋白质的形状及其所附带的电荷量而逐渐呈梯度分开，主要用于分离蛋白质和寡核苷酸。Tricine-SDS-PAGE 电泳能够较好的分离 10KD 以下的蛋白或多肽，是电泳法分离多肽的主要方法，30T 一般可以配制 30~35 块胶，具体配制的量应根据器具大小决定。电泳分离后可直接考马斯亮蓝染色、银染等。

### 组成：

产品名称	PE020-30T	Storage
试剂(A): 49.5%T 3%C	20ml	4°C
试剂(B): 49.5%T 6%C	60ml	4°C
试剂(C): Gel buffer	90ml	4°C
试剂(D): Glycerol	20ml	RT
试剂(E): Ammonium Persulfate	0.3g	RT
试剂(F): TEMED	0.5ml	4°C 避光
说明书	一份	

### 保存条件：

4°C避光保存，一年有效。

### 操作步骤(仅供参考)：

- 1、配制 10%过硫酸铵(APS)：直接在 0.3g Ammonium Persulfate 中加入蒸馏水，充分溶解，分装成小份储存于-20°C或 4°C。
- 2、根据目的蛋白分子量大小选择合适的凝胶浓度，按照附表配制分离胶：
  - ①将不同体积的蒸馏水、49.5%T 6%C、Gel buffer、Glycerol 加入到离心管中充分混合。
  - ②加入 10%APS 和 TEMED，立即涡旋混匀，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(1mm mini-gel，分离胶溶液加约 4ml)，然后在分离胶溶液上轻轻覆盖一层的水层，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。
- 3、根据目的蛋白分子量大小选择合适的凝胶浓度，按照附表配制夹层胶：
  - ①去除覆盖在分离胶上的水层，用滤纸将残留的水尽量吸去。

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



- ②将不同体积的蒸馏水、49.5%T 3%C 和 Gel buffer 加入到离心管中混合。
- ③加入 10%APS 和 TEMED，立即涡旋混匀，以使溶液充分混匀。
- ④将适量的夹层胶溶液迅速加至分离胶的上面，然后在夹层胶溶液上轻轻覆盖一层的水层，使凝胶表面保持平整。
- ⑤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。
- 4、根据目的蛋白分子量大小选择合适的凝胶浓度，按照附表配制浓缩胶：
- ①去除覆盖在夹层胶上的水层，用滤纸将残留的水吸去。
- ②将不同体积的双蒸水、49.5%T 3%C 和 Gel buffer 加入到离心管中混合。
- ③加入 10%APS 和 TEMED，立即涡旋混匀，以使溶液充分混匀。
- ④将梳子插入凝胶内，避免产生气泡。
- ⑤静置，待凝胶聚合后，小心地拔出梳子，避免破坏加样孔。进行电泳操作。
- 5、电泳

将电泳槽置于 4℃或冰水浴中，外槽加入阳极缓冲液，内槽加入阴极缓冲液，30V 预电泳 10 min，将处理好的样品加入点样孔，30V 电泳 1h，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。

**附表 Tricine-SDS-PAGE 凝胶配方表**

成分	分离胶			夹层胶	浓缩胶
浓度/体积	20%/4.5ml	16.5%/4.5ml	15.5%/4.5ml	0.407ml	0.16ml
49.5%T 3%C	—	—	—	0.407ml	0.16ml
49.5%T 6%C	1.82ml	1.5ml	1.395ml	—	—
Gel buffer	1.5ml	1.5ml	1.5ml	0.667ml	0.496ml
Glycerol	0.48ml	0.48ml	0.48ml	—	—
蒸馏水	0.7ml	1.02ml	1.125ml	0.926ml	1.344ml
10%APS	40μl	40μl	40μl	20μl	20μl
TEMED	5μl	5μl	5μl	3μl	3μl

**注意事项：**

- 1、过硫酸铵配制成 10%APS 溶液后应当-20℃保存，用 2~3 次，亦可 4℃保存几天。
- 2、TEMED 易挥发，使用后请盖紧瓶盖。
- 3、配制聚丙烯凝胶的过程中，如果室温较低，可以置于 37℃放置，加速凝固。在液体混匀的时候应尽量避免气泡的产生。
- 4、在分离胶上层加蒸馏水时要缓慢，速度不宜过快。
- 5、49.5%T 3%C 和 49.5%T 6%C 为不同比例的 Acr-Bis，有轻微神经毒性，请小心操作。
- 6、本产品仅供科研使用，严禁它用。

