

# M5 Tricine-SDS-PAGE Gel Kit

## 极低分子量蛋白凝胶制备试剂盒

### 使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 Tricine-SDS-PAGE Gel Kit	50sheets	MF422-plus-01

#### 【储存条件】

2-8°C

#### 【产品简介】

常规的 Tris-SDS-PAGE 电泳的只能分辨大分子蛋白,对于相对分子量小的,尤其是 10 kD 以下的蛋白分辨率极低。而 Tricine-SDS-PAGE 可以很好的分离分子量在 1-10 kD 的蛋白及多肽,成为目前电泳法变性分离多肽的主要方法。本产品包括 Tricine-SDSPAGE 凝胶制备所需全套试剂,只需自备蒸馏水,即可制备高质量各种浓度的凝胶,方便、快捷,电泳后可直接用于考染、银染、Western 杂交等实验。

#### 【产品组份】

	MF422-plus-01
49.5%T 3%C	30 ml
49.5%T 6%C	100 ml
Tricine-SDS-PAGE Gel Buffer	140 ml
Glycerol	30 ml
APS	0.5 g
TEMED	750 $\mu$ l

本产品所提供的 APS (过硫酸铵)为固体粉末,使用前加入纯水溶解即配制成 10%APS 溶液(0.5 g APS 加 5 ml 纯水),将溶液分装后置于-20°C 保存,通常半年内有效。溶液在使用中可放置 4°C 保存两周。

#### 【注意事项】

1. 本产品所提供的 APS (过硫酸铵)为固体粉末,使用前加入纯水溶解即配制成 10%APS 溶液(0.5 g APS 加 5 ml 纯水),10%APS 配制后分装-20 度保存。APS 溶液不稳定,应尽量减少室温存放时间,每次取用后立即放回冰箱,以防失效;若发现凝胶聚合时间延长,应考虑更换,使用-20°C 保存的 10%APS。
2. 在凝胶配制过程中,尤其是液体混匀步骤,应尽量避免气泡的产生。
3. 在分离胶上层加纯水时要小心操作,加水时速度不能太快。
4. 丙烯酰胺具有神经毒性,操作时请穿着实验服并佩戴一次性手套。
5. 本产品仅用于科研,不能用于人体实验或人体治疗。

## 【使用方法】

根据目的蛋白分子量大小选择合适的 PAGE 分离胶配制浓度，凝胶浓度配方参考附表。

### I 配制分离胶

1. 将不同体积的纯水、49.5%T 6%C、Tricine-SDS-PAGE Gel Buffer 和 Glycerol（甘油）加入到离心管中混合。
2. 加入 10%APS 和 TEMED，立即涡旋混匀 5-10 秒，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（对于 1 mm mini-gel，分离胶溶液加约 4 ml），然后在分离胶溶液上轻轻覆盖一层 1-3 cm 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。

### II 配制夹层胶

去除覆盖在分离胶上的水层，用滤纸将残留的水尽量吸去。

1. 将不同体积的纯水、49.5%T 3%C 和 Tricine-SDS-PAGE Gel Buffer 加入到离心管中混合。
2. 加入 10%APS 和 TEMED，立即涡旋混匀 5-10 秒，以使溶液充分混匀。
3. 将适量的夹层胶溶液迅速加至分离胶的上面（对于 1 mm 的 mini-gel，夹层胶溶液加约 1 ml），然后在夹层胶溶液上轻轻覆盖一层水层，使凝胶表面保持平整。
4. 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。

### III 配制浓缩胶

去除覆盖在夹层胶上的水层，用滤纸将残留的水吸去。

1. 将不同体积的纯水、49.5%T 3%C 和 Tricine-SDS-PAGE Gel Buffer 加入到离心管中混合。
2. 加入 10%APS 和 TEMED，立即涡旋混匀 5-10 秒，以使溶液充分混匀。
3. 将梳子插入凝胶内，避免产生气泡。
4. 待凝胶聚合后，小心地拔出梳子，以免破坏加样孔。
5. 进行电泳操作。

### IV 电泳

将电泳槽放入 4°C 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，将样品（已经过 Tricine 专用上样缓冲液处理）加入点样孔后 30V 电泳 1 小时，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

组分	分离胶 (胶浓度/配制体积)			夹层胶 (胶浓度/配制体积)	浓缩胶 (胶浓度/配制体积)
	20% / 4.5 ml	16.5% / 4.5 ml	15.5% / 4.5 ml		
49.5% T 3% C	/	/	/	10% / 2 ml	4% / 2 ml
49.5% T 6% C	1.82 ml	1.5 ml	1.395 ml	/	/
凝胶缓冲液	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml	0.667 ml	0.496 ml
甘油	0.48 ml	0.48 ml	0.48 ml	/	/
ddH <sub>2</sub> O	0.7 ml	1.02 ml	1.125 ml	0.926 ml	1.344 ml
10% AP	40 $\mu$ l	40 $\mu$ l	40 $\mu$ l	20 $\mu$ l	20 $\mu$ l
TEMED	5 $\mu$ l	5 $\mu$ l	5 $\mu$ l	3 $\mu$ l	3 $\mu$ l

**阳极缓冲液配方：**

配制体积            1 L  
Tris                    24.22 g  
用 HCl 调节 pH 至 8.9

**阴极缓冲液配方：**

配制体积            1 L  
Tris                    12.11 g  
Tricine                17.92 g  
SDS                    1 g

**Tricine 专用上样缓冲液配方(还原, 2x)**

配制体积                100 ml  
1M Tris-Hcl (pH 6.8)    10 ml  
甘油                    24 ml  
SDS                     8 g  
溴酚蓝                 0.02 g  
DTT                     3.1 g

**【备注】**

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。