

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】 只能放于 4℃保存，**非常重要！否则 49.5%T 3%C 和 49.5%T 6%C 这 2 个组分很容易结块而失效！**

【产品简介】

常规 Tris-SDS-PAGE 电泳只能分辨大分子蛋白，对于相对分子量小尤其是 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 μ l

注意：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℃保存，通常半年内有效。溶液在使用中可放置 4℃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℃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

1. 将电泳槽放入 4℃或冰水浴中，外槽加入阳极缓冲液（MF-TSPBufferP-01），内槽加入阴极缓冲液（MF-TSPBufferN-01）。
2. 不加任何样本，先 30V 预电泳 10 min，观察气泡是否正常产生。
3. 将样品（已经过 Tricine 专用上样缓冲液处理，具体方法见 MF631-01）加入点样孔后，同时加上极低分子量预染蛋白 Marker（MF215-T）作为示踪对照，30V 电泳 1 小时。
4. 再提高电压到 100V，电泳至溴酚蓝到达胶底部后停止电泳。

注意：如果蛋白<3kD 或者极小多肽，不用等溴酚蓝跑到底部就可以结束电泳，以免蛋白或者多肽跑出胶去。

5. 进行后续的考马斯亮蓝染色（聚合美“染立显”，货号 MF768-05）或转膜进行常规 WB 检测流程。

附录：不同浓度分离胶各组分用量表（可打印出来，贴在方便看的地方）

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	/	0.16 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	/	/
ddH2O	0.7 ml	1.02 ml	1.125 ml	0.926 ml	1.344 ml
10% AP	40 µl	40 µl	40 µl	20 µl	20 µl
TEMED	5 µl	5 µl	5 µl	3 µl	3 µl

【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。