One-Step Color Fast Tricine-PAGE Gel Preparation Kit {一步法彩色快速凝胶试剂盒,18%}

货号：BRK0006

规格：50 T

◆ 产品简介

常规的 Tris-SDS-PAGE 电泳的只能分离大分子蛋白，对于小分子蛋白，尤其是 10 kDa 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 kDa 的蛋白及多肽，成为变性电泳分离多肽主要使用的凝胶体系。本产品包括 Tricine-PAGE 凝胶制备所需全套试剂，只需自备蒸馏水，即可制备 18%浓度的高质量凝胶，方便、快捷，电泳后可直接用于考染、银染、Western 杂交等实验。本试剂盒可配制 30-50 块常规大小的 PAGE 胶，具体数量由凝胶浓度和厚度决定，50 片/盒(0.75 mm)。

◆ 产品特点

1. 超高分辨率，最小可分离 1.2 kDa 的分子；
2. 配胶快捷，短时间即可完成凝胶配制；
3. 彩色上层胶，方便上样；
4. 改良配方，无需使用夹层胶；
5. 凝胶不含 SDS，也可用于非变性电泳；

◆ 产品组成

产品编码	名称	规格	保存条件
BRK0006-1	上层胶溶液(2×)	40 mL	2-8℃，避光
BRK0006-2	彩色上层胶缓冲液(2×)	40 mL	2-8℃
BRK0006-3	下层胶溶液(2×)	120 mL	2-8℃，避光
BRK0006-4	下层胶缓冲液(2×)	120 mL	2-8℃
BRK0006-5	改良型促凝剂	5 mL	-20℃ 避光

◆ 保存条件

1. 本试剂盒 2-8 ℃避光保存，有效期为 12 个月；
2. 试剂盒冰袋运输，其中改良型促凝剂如**短期使用**，可于 2-8℃避光保存，**2 月内用完**，同时尽量减少室温存放时间，以防失效。

400-999-6126 cn.market@abclonal.com www.abclonal.com.cn

◆ 配制说明

	试剂	分离胶			浓缩胶		
	凝胶厚度	0.75 mm	1.00 mm	1.50 mm	0.75 mm	1.00 mm	1.50 mm
BRK0006-1	上层胶溶液	-	--	-	0.5 mL	0.75 mL	1.0 mL
BRK0006-2	上层胶缓冲液	-	--	-	0.5 mL	0.75 mL	1.0 mL
BRK0006-3	下层胶溶液	2.0 mL	2.7 mL	4.0 mL	-	--	-
BRK0006-4	下层胶缓冲液	2.0 mL	2.7 mL	4.0 mL	-	--	-
BRK0006-5	改良型凝固剂	40 μL	54 μL	80 μL	10 μL	15 μL	20 μL

注意：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，反之亦然；

◆ 操作步骤

一、制胶(以制备一块 0.75/1.0/1.5 mm 的 mini 胶为例):

1.取等体积下层胶溶液和下层胶缓冲液，各 2.0/2.7/4.0 mL，混匀；

2.取等体积上层胶溶液和彩色上层胶缓冲液，各 0.5/0.75/1.0 mL，混匀；

注意：由于染料的特殊理化性质，彩色上层胶缓冲液使用前请摇匀。

3.向步骤 1 的混合溶液中加入 40/54/80 μL 改良型促凝剂，轻轻混匀，将混匀后的溶液注入制胶玻璃板中，使液面和短玻璃板上沿的距离比梳齿长 0.5 cm 即可；

注意：①此溶液为过量，请勿全部注入，可留少许于配胶杯中，以判断胶凝固状态；

②加入改良型促凝剂后，需轻柔混匀，防止过多氧气混入胶溶液，抑制凝胶聚合。

4.（可选）加适量水或乙醇覆盖于下层胶之上进行压胶；待下层胶凝固后（约 15min），倒去上层水或乙醇

（注：当水/乙醇和胶之间有一条折射线时，说明胶已凝固）

5.向步骤 2 的混合溶液中加入 10/15/20 μL 改良型促凝剂，轻轻混匀，无需等待下层胶凝固，即可将混匀后的溶液轻缓注入制胶玻璃板中，插入梳齿；

注意：①灌注上层胶液一定要轻缓，避免将上层胶液冲入下层胶，上层胶液注入后，轻轻震动制胶架，即可使上下层胶分界面平齐；

②加入改良型促凝剂后，需轻柔混匀，防止过多氧气混入胶溶液，抑制凝胶聚合。

6.待胶凝固后（30 min）,即可用于电泳。

注意：胶凝固后上下层胶分界面平整度略弱于传统方法配的胶，但对后续电泳没有影响。

二、凝胶保存:

凝胶保存时，应注意:

a. 避免温度反复剧烈变化

400-999-6126 cn.market@abclonal.com www.abclonal.com.cn

b. 避免温度低于 0℃ ，否则凝胶冻结结冰，不能使用

c. 确保凝胶处于湿润状态

三、电泳：

1. 将凝固好的凝胶固定在电泳槽中，安装好电泳装置；

2. 配制 1×Tris-Tricine-SDS 电泳缓冲液；向电泳槽内槽中注满 1×Tris-Tricine 电泳缓冲液，覆盖加样孔，外槽注入适量 1×Tris-Tricine 电泳缓冲液；

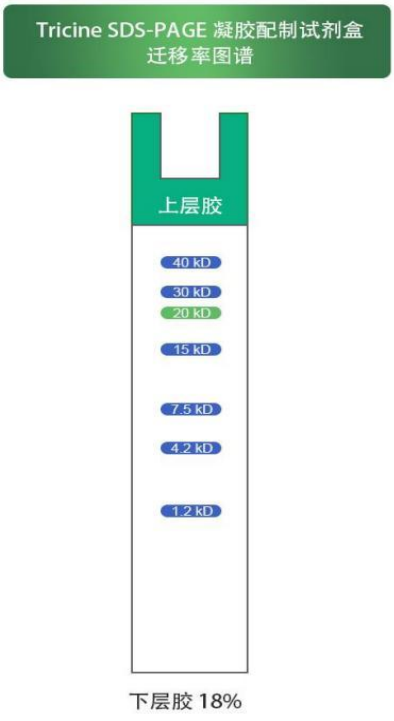
注：也可使用阴、阳极电泳缓冲液，阳极缓冲液加入外槽，阴极缓冲液加入内槽；

3. 将蛋白样品与 2× 小分子蛋白上样缓冲液 1：1 混合均匀，100 ℃ 加热 3-5 min；

4. 上样前使用移液器吸取电泳缓冲液轻轻吹打点样孔， 以去除点样孔内残余的胶液；在梳孔内加入适当浓度和体积的蛋白样品；

5. 电泳条件：150 V ，90 min 左右，当溴酚蓝指示带电泳至胶板底部，或实验预定位置时，即可结束电泳；为了获得更好的小分子蛋白分辨率，建议在 4 ℃或冰水浴中进行电泳。

注：电泳结束后，应尽快进行后续步骤，防止多肽扩散出凝胶外。



上图为 Tris-Tricine 缓冲系统中，蛋白分子量标准在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。

◆ 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. 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. 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. 凝胶凝结的时间与温度高低有关，温度高，凝结所需的时间短；反之，需要的时间长。可根据具体情况，调整改良型促凝剂的添加比例；室温过高时建议适当减少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. 将试剂盒从冰箱内取出后，请置于室温，等待配胶试剂盒中的试剂恢复至室温后（达到 20℃以上）使用；

6. 仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床医学诊断及其他非合理用途，不得存放于普通住宅内；

7. 为了您的安全和健康，请穿戴好个人防护装备和实验服装进行操作。

◆ 疑难问题

常见问题	可能原因	解决方法
凝胶未凝固好	1.改良型促凝剂失效 2.胶液温度较低 3.改良型促凝剂添加比例错误	1.注意.改良型促凝剂保存条件 2.将试剂盒恢复至室温使用 3.按照说明书使用
梳齿缺失		
条带呈现微笑状		
条带弯曲	1.灌制浓缩胶时，速度较快 2.插梳子时，用力较猛 3.室温较高，分离胶凝固较快	1.灌制浓缩胶时，应动作轻缓 2.插梳子时，应动作轻缓 3. 降低室温，或降低改良型促凝剂添加比例
样品在样品孔内漏样	浓缩胶干缩，导致凝胶和玻璃板之间出现间隙	制好的凝胶应尽快使用，或存于保存液中4℃储存
电泳条带较粗	浓缩胶较少	增加浓缩胶长度

400-999-6126 cn.market@abclonal.com www.abclonal.com.cn