



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
 订货热线: 400-1683301或800-8283301
 订货e-mail: order@beyotime.com
 技术咨询: info@beyotime.com
 网址: http://www.beyotime.com

TBE PAGE凝胶配制试剂盒

产品编号	产品名称	包装
D0168S	TBE PAGE凝胶配制试剂盒	30-50gels

产品简介:

- 碧云天生产的TBE PAGE凝胶配制试剂盒(TBE PAGE Gel Preparation Kit), 提供了配制TBE PAGE凝胶所需的各种试剂, 用户只需自备制胶器具和蒸馏水, 即可配制不同浓度的TBE PAGE凝胶(即聚丙烯酰胺凝胶)。TBE PAGE凝胶主要用于10-3000bp双链核酸或10-3000nt单链核酸的高分辨率电泳分析或纯化, 广泛用于限制性酶切产物、PCR产物、Southern和引物分析等。
- 核酸电泳通常是基于长度来电泳分离DNA或RNA片段的分析技术。将待分析的核酸样品置于凝胶中, 核酸由于其糖磷酸主链带负电荷, 在电场的作用下向阳极迁移。不同大小的片段能够通过凝胶中的迁移速度差异来完成分离, 较长的分子迁移速度较慢, 因为它们在凝胶中的阻力较大。由于分子的大小影响其迁移速度, 在一定的时间内, 较短的片段比较长的片段更接近阳极[1]。在核酸电泳实验中, 常用的有两种凝胶: 琼脂糖凝胶和聚丙烯酰胺凝胶。与琼脂糖凝胶相比, 聚丙烯酰胺凝胶具有更高分辨率和灵敏度、低本底染色、所需样品量较少以及准确性和可重复性高等优点[2]。常用于核酸电泳的PAGE凝胶有TBE PAGE凝胶、TBE-Urea PAGE凝胶[3]和EMSA PAGE凝胶等。其中, TBE PAGE凝胶由TBE缓冲液(Tris-硼酸-EDTA)制备, 主要用于核酸的非变性电泳, 常应用于DNA或RNA片段的高分辨率分析, 包括限制性酶切产物、PCR产物、Southern和引物等的分析等实验。
- 本试剂盒制备的TBE PAGE凝胶无DNase, 适合长时间电泳, 且分辨率高、分离效果佳。
- 本试剂盒制备的TBE PAGE凝胶使用常用的TBE电泳液, 推荐使用碧云天TBE (1X premixed powder) (ST720/ST721)、TBE (5X premixed powder) (ST723)或TBE (5X) (ST718)。
- 本试剂盒约可配制30-50块常规大小的TBE PAGE凝胶。具体可以配制的凝胶数量和凝胶的厚薄以及凝胶的大小有关。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D0168S-1	30% Acr-Bis (29:1)	100ml
D0168S-2	TBE (5X)	100ml
D0168S-3	凝胶聚合催化剂	0.5g
D0168S-4	TEMED Substitute	0.5ml
—	说明书	1份

保存条件:

TBE (5X)和凝胶聚合催化剂室温保存。30% Acr-Bis (29:1)和TEMED Substitute 4°C避光保存。凝胶聚合催化剂用蒸馏水配制成10%溶液后, 分装成小管-20°C保存, 通常半年内有效。

注意事项:

- 凝胶聚合催化剂用水配制成10%溶液后, 应当分装成小管-20°C保存。同时应尽量减少室温存放时间, 以防失效。
- TEMED Substitute易挥发, 使用后请盖紧瓶盖。另外凝胶凝聚的速度和温度及光照关系密切, 可通过适当调节凝胶聚合催化剂和TEMED Substitute的用量, 控制在不同的室内环境下凝胶凝聚的速度。
- TEMED Substitute易燃, 有腐蚀性, 操作时请小心, 并注意有效防护以避免直接接触人体或腐蚀其他物品。
- 如果需要30% Acr-Bis (29:1) (ST003)可向碧云天单独订购。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 准备倒胶的模具。可以使用常规的制备蛋白电泳胶的模具, 如碧云天的MiniProGel™蛋白制胶与电泳系统(E6001/E6005)或其它适当模具。最好选择可以灌制较薄胶的模具(如0.75mm厚度), 以便于干胶等后续操作。为得到更好的结果, 可以选择可灌制较大TBE PAGE凝胶的模具。制胶前必须把制胶模具冲洗干净, 需特别注意不能有SDS残留。
2. 10%凝胶聚合催化剂的配制: 例如称取0.1g凝胶聚合催化剂, 用蒸馏水溶解, 并定容至1ml, 即为10%凝胶聚合催化剂。
3. 常用蛋白电泳胶的模具(胶板宽度为10厘米)所需下层胶和上层胶体积(下层胶按6厘米高度计算, 上层胶按1.5厘米高度计算, 均含约0.3ml的冗余量)参见下表。

Gel Thickness	Volume of Resolving Gel	Volume of Stacking Gel
0.75mm	4.0ml	1.0ml
1.0mm	5.4ml	1.5ml
1.5mm	8.0ml	2.0ml

注：下层胶体积已包含适量冗余，请勿全部用于灌制下层胶，以免灌胶时上层胶高度不够。

4. 根据目的蛋白的分子量大小选择合适的凝胶浓度，再按照下面的表格配制TBE PAGE的分离胶(即下层胶)：不同浓度的TBE PAGE分离胶的最佳分离范围：

TBE PAGE分离胶浓度	最佳分离范围
5%胶	~200bp-2kb
10%胶	~50bp-1.5kb
12%胶	~30bp-1.2kb
15%胶	~20bp-1kb
20%胶	~10bp-1kb

成分	配制不同体积TBE PAGE凝胶所需各成分的体积(毫升)					
5%胶	5	10	20	30	40	50
Ultrapure water	3.11	6.23	12.50	18.78	25.01	31.13
30% Acr-Bis (29:1)	0.83	1.67	3.33	5.00	6.67	8.33
TBE (5X)	1.00	2.00	4.00	6.00	8.00	10.00
10%凝胶聚合催化剂	0.05	0.10	0.15	0.20	0.30	0.50
TEMED Substitute	0.004	0.008	0.012	0.016	0.024	0.04
成分	配制不同体积TBE PAGE凝胶所需各成分的体积(毫升)					
10%胶	5	10	20	30	40	50
Ultrapure water	2.28	4.56	9.18	13.79	18.35	22.81
30% Acr-Bis (29:1)	1.67	3.33	6.67	10.00	13.33	16.67
TBE (5X)	1.00	2.00	4.00	6.00	8.00	10.00
10%凝胶聚合催化剂	0.05	0.10	0.15	0.20	0.30	0.50
TEMED Substitute	0.002	0.004	0.006	0.008	0.012	0.02
成分	配制不同体积TBE PAGE凝胶所需各成分的体积(毫升)					
12%胶	5	10	20	30	40	50
Ultrapure water	1.95	3.90	7.84	11.79	15.69	19.48
30% Acr-Bis (29:1)	2.00	4.00	8.00	12.00	16.00	20.00
TBE (5X)	1.00	2.00	4.00	6.00	8.00	10.00
10%凝胶聚合催化剂	0.05	0.10	0.15	0.20	0.30	0.50
TEMED Substitute	0.002	0.004	0.006	0.008	0.012	0.02
成分	配制不同体积TBE PAGE凝胶所需各成分的体积(毫升)					
15%胶	5	10	20	30	40	50
Ultrapure water	1.45	2.90	5.84	8.79	11.69	14.48
30% Acr-Bis (29:1)	2.50	5.00	10.00	15.00	20.00	25.00
TBE (5X)	1.00	2.00	4.00	6.00	8.00	10.00
10%凝胶聚合催化剂	0.05	0.10	0.15	0.20	0.30	0.50
TEMED Substitute	0.002	0.004	0.006	0.008	0.012	0.02
成分	配制不同体积TBE PAGE凝胶所需各成分的体积(毫升)					
20%胶	5	10	20	30	40	50
Ultrapure water	0.61	1.23	2.51	3.79	5.02	6.15
30% Acr-Bis (29:1)	3.33	6.67	13.33	20.00	26.67	33.33
TBE (5X)	1.00	2.00	4.00	6.00	8.00	10.00
10%凝胶聚合催化剂	0.05	0.10	0.15	0.20	0.30	0.50
TEMED Substitute	0.002	0.004	0.006	0.008	0.012	0.02

5. 按照如下表格配制TBE PAGE的浓缩胶(也称堆积胶、积层胶或上层胶)：

成分	配制不同体积TBE PAGE浓缩胶所需各成分的体积(毫升)					
4%胶	2	3	4	6	8	10

Ultrapure water	1.31	1.97	2.62	3.93	5.25	6.56
30% Acr-Bis (29:1)	0.27	0.40	0.53	0.80	1.07	1.33
TBE (5X)	0.40	0.60	0.80	1.20	1.60	2.00
10%凝胶聚合催化剂	0.02	0.03	0.04	0.06	0.08	0.10
TEMED Substitute	0.002	0.003	0.004	0.006	0.008	0.01

注1: 按照上述顺序依次加入各种试剂, 加入TEMED Substitute前先混匀, 加入TEMED Substitute后立即混匀, 并马上加入到制胶的模具中。避免产生气泡, 并加上梳齿。如果发现非常容易形成气泡, 可以把一块制胶的玻璃板进行硅烷化处理。

注2: 通常10-30分钟内胶会凝固。具体的凝固时间和温度及光照有关, 上表中10%凝胶聚合催化剂和TEMED Substitute的正常推荐用量是室温为25°C时的推荐用量。为达到与25°C时相近的凝固时间, 当室温低于25°C时, 可以适当增加10%凝胶聚合催化剂和TEMED Substitute的用量, 例如20°C时建议使用正常推荐用量的1.5倍, 15°C时建议使用正常推荐用量的2倍。

注3: 浓缩胶中可加入适量蓝色、红色或黄色PAGE上层胶染料(500X, 无迁移) (P0710/P0712/P0715)便于上样。

6. 具体的电泳步骤, 可参考碧云天BeyoGel™ TBE PAGE预制胶系列产品的使用说明(D0171-D0186)。

参考文献:

1. Green MR, Sambrook J. Cold Spring Harb Protoc. 2021. 2021(1).
2. Tietz D, Aldroubi A, Pulyaeva H, Guszczynski T, Garner MM, et al. Electrophoresis. 1992. 13(9-10):614-6.
3. Summer H, Grämer R, Dröge P. J Vis Exp. 2009. (32):1485.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D0168S	TBE PAGE凝胶配制试剂盒	30-50gels
D0171S	BeyoGel™ TBE PAGE预制胶(5%, 10孔)	10块
D0172S	BeyoGel™ TBE PAGE预制胶(5%, 15孔)	10块
D0174S	BeyoGel™ TBE PAGE预制胶(10%, 10孔)	10块
D0175S	BeyoGel™ TBE PAGE预制胶(10%, 15孔)	10块
D0177S	BeyoGel™ TBE PAGE预制胶(12%, 10孔)	10块
D0178S	BeyoGel™ TBE PAGE预制胶(12%, 15孔)	10块
D0182S	BeyoGel™ TBE PAGE预制胶(15%, 10孔)	10块
D0183S	BeyoGel™ TBE PAGE预制胶(15%, 15孔)	10块
D0185S	BeyoGel™ TBE PAGE预制胶(4-20%, 10孔)	10块
D0186S	BeyoGel™ TBE PAGE预制胶(4-20%, 15孔)	10块
R0223-500ml	TBE (5X, DNase/RNase free)	500ml
ST718	TBE (5X)	500ml
ST719-500ml	TBE (5X) (DNase, RNase & Protease free, Sterile)	500ml
ST720	TBE (1X premixed powder)	2L
ST721	TBE (1X premixed powder)	10×2L
ST723	TBE (5X premixed powder)	2×2L

Version 2024.08.21