



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

## Tricine-SDS-PAGE凝胶配制试剂盒(小分子量蛋白用)

产品编号	产品名称	包装
P0531S	Tricine-SDS-PAGE凝胶配制试剂盒(小分子量蛋白用)	30-50gels

### 产品简介:

- 碧云天生产的Tricine-SDS-PAGE凝胶配制试剂盒(小分子量蛋白用) (Tricine-SDS-PAGE Gel Preparation Kit for Small Molecular Weight Protein), 提供了配制Tricine-SDS-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Tricine-SDS-PAGE凝胶(即聚丙烯酰胺凝胶)。本产品优化了配方, 无须配制夹层胶, 且只需一种电泳缓冲液。Tricine-SDS-PAGE凝胶主要用于小分子量蛋白或多肽(1-40kDa)的分析检测, 其电泳缓冲系统采用Tris-Tricine电泳缓冲系统, 可以对于小分子量的蛋白获得良好的电泳分离效果, 适用于例如胰岛素、β淀粉样蛋白等小分子量蛋白或多肽的电泳以及后续的Western检测。
- 聚丙烯酰胺凝胶电泳(Polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE)技术广泛用于蛋白质、核酸及蛋白质-核酸复合物的分离纯化、检测、鉴定、分子量分析等实验, 是生命科学研究中最基本的实验技术之一。常见的Western印迹(Western blot)检测就是基于PAGE的。Tricine-SDS-PAGE (基于Tris-Tricine缓冲系统)通常用于分离分子量范围为1-100kDa的蛋白质或多肽。它是分辨小于30kDa的蛋白质首选的电泳系统, 对于从生物膜中分离膜蛋白复合物也很有帮助[1]。在传统的Glycine-SDS-PAGE (也被称为Laemmli-SDS-PAGE, 基于Tris-Glycine缓冲系统)中, 随着电泳的进行, 浓缩胶中来自样品和电泳液中SDS的游离的十二烷基硫酸根(Dodecyl sulfate, DS)离子持续累积, 并与小分子量蛋白的结合, 阻碍了小分子量蛋白的分离, 从而导致条带模糊和分辨率降低, 干扰小分子量蛋白的固定和染色。在Tricine-SDS-PAGE中, 凝胶缓冲液的pH值较低, 并在电泳缓冲液用Tricine替代Glycine, 可以有效降低SDS与小分子量蛋白的结合, 使小分子量蛋白或多肽能更好地分离, 呈现了更清晰的条带和更高的分辨率。同时, Tricine的pKa值为8.15, Glycine的pKa值为9.6, 由于pKa的变化, 两种方法对高或低分子量蛋白质的分辨率也各不相同。Glycine-SDS-PAGE的凝胶可以分离高分子量蛋白质(20-200kDa), 但即使是使用较高的丙烯酰胺(Acrylamide)浓度的凝胶(4-20%梯度凝胶), 小于20kDa的蛋白质也会因为扩散等原因较难清楚地分离。Tricine-SDS-PAGE只能用于分离低于100kDa的蛋白质, 尤其是20kDa或更低分子量的蛋白质或多肽可以通过这种方法很好地分离[2]。此外, Tricine-SDS-PAGE有助于在蛋白质印迹过程中轻松转移疏水性蛋白质, 适用于从二维凝胶中分离疏水性蛋白质以进行质谱分析[3]。
- 本试剂盒提供的Gel Buffer使用略偏碱性pH的Tris缓冲液制备, 具有较低的pH值, 尽可能地减少了蛋白质修饰的干扰, 适用于变性蛋白电泳。电泳时使用Tris-Tricine缓冲系统的SDS-PAGE电泳液, 推荐使用Tricine-SDS-PAGE Running Buffer (10X) (P0739)。电泳后可以使用Tris-Glycine缓冲系统的转膜液进行转膜, 推荐使用Western转膜液(P0021A或P0021B)。
- 本试剂盒约可配制30-50块常规大小的Tricine-SDS-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
P0531S-1	30% Acr-Bis (29:1)	100ml
P0531S-2	Gel Buffer	150ml
P0531S-3	凝胶聚合催化剂	0.5g
P0531S-4	TEMED Substitute	0.5ml
—	说明书	1份

### 保存条件:

4°C保存, 一年有效。Gel Buffer和凝胶聚合催化剂可以室温保存。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Tricine-SDS-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(凝胶浓度越高，更小分子量的蛋白分辨率越好)，再按照下面的表格配制Tricine-SDS-PAGE的分离胶(即下层胶)：

成分	配制不同体积Tricine-SDS-PAGE凝胶所需各成分的体积(毫升)					
<b>7%胶</b>	5	10	20	30	40	50
Ultrapure water	0.98	1.96	3.98	5.99	7.95	9.81
30% Acr-Bis (29:1)	1.17	2.33	4.67	7.00	9.33	11.67
Gel Buffer	2.80	5.60	11.20	16.80	22.40	28.00
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Tricine-SDS-PAGE凝胶所需各成分的体积(毫升)					
<b>9%胶</b>	5	10	20	30	40	50
Ultrapure water	0.65	1.30	2.64	3.99	5.29	6.48
30% Acr-Bis (29:1)	1.50	3.00	6.00	9.00	12.00	15.00
Gel Buffer	2.80	5.60	11.20	16.80	22.40	28.00
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Tricine-SDS-PAGE凝胶所需各成分的体积(毫升)					
<b>10%胶</b>	5	10	20	30	40	50
Ultrapure water	0.48	0.96	1.98	2.99	3.95	4.81
30% Acr-Bis (29:1)	1.67	3.33	6.67	10.00	13.33	16.67
Gel Buffer	2.80	5.60	11.20	16.80	22.40	28.00
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Tricine-SDS-PAGE凝胶所需各成分的体积(毫升)					
<b>12%胶</b>	5	10	20	30	40	50
Ultrapure water	0.45	0.90	1.84	2.79	3.69	4.48
30% Acr-Bis (29:1)	2.00	4.00	8.00	12.00	16.00	20.00
Gel Buffer	2.50	5.00	10.00	15.00	20.00	25.00
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Tricine-SDS-PAGE凝胶所需各成分的体积(毫升)					
<b>15%胶</b>	5	10	20	30	40	50
Ultrapure water	0.15	0.30	0.64	0.99	1.29	1.48
30% Acr-Bis (29:1)	2.50	5.00	10.00	15.00	20.00	25.00
Gel Buffer	2.30	4.60	9.20	13.80	18.40	23.00
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Tricine-SDS-PAGE凝胶所需各成分的体积(毫升)					
<b>16%胶</b>	5	10	20	30	40	50
Ultrapure water	0.13	0.26	0.58	0.89	1.15	1.31
30% Acr-Bis (29:1)	2.67	5.33	10.67	16.00	21.33	26.67

Gel Buffer	2.15	4.30	8.60	12.90	17.20	21.50
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Tricine-SDS-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Tricine-SDS-PAGE浓缩胶所需各成分的体积(毫升)					
4%胶	2	3	4	6	8	10
Ultrapure water	1.41	2.11	2.82	4.22	5.64	7.04
30% Acr-Bis (29:1)	0.27	0.40	0.53	0.80	1.07	1.33
Gel Buffer	0.30	0.46	0.60	0.91	1.21	1.52
10%凝胶聚合催化剂	0.02	0.03	0.04	0.06	0.08	0.1
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. 具体的电泳步骤如下。

- 样品准备: 将样品和BeyoGel™ Tricine SDS Sample Buffer (2X) (P0750)按1:1混合, 95°C加热5分钟, 以充分变性蛋白。
- 将按照本试剂盒使用说明配制好的凝胶固定在电泳槽中, 平稳、缓慢地拔出梳子。
- 电泳缓冲液准备。推荐使用Tricine-SDS-PAGE Running Buffer (10X) (P0739)。
- 内槽加满电泳缓冲液, 外槽加入电泳缓冲液没过电泳槽底部的阳极即可。电泳槽推荐使用碧云天的MiniProGel™蛋白制胶与电泳系统(E6001/E6005)。
- 上样: 将10微升吸头或BeyoGold™凝胶电泳上样吸头(FTIP205/FTIP206/FTIP208/FTIP209)的尖端垂直方向轻轻插入到上样孔中即可上样, 枪头避免戳破凝胶, 更不能使胶板变形导致样品泄漏。推荐使用碧云天小分子量的BeyoColor™彩色预染蛋白分子量标准(2.7-40kD) (P0771)。  
注: 最佳上样量须通过实验来确定, 样品过量较易导致条带拖尾和信号过强。
- 将电泳槽盖子盖好, 并将电源线插头插入电泳仪电源插孔(红对红, 黑对黑)。一般在150V电压, 电泳40-50分钟左右即可, 或溴酚蓝条带电泳至凝胶近底部或实验预定的位置。如果需获得更加平整和锐利的条带, 可以把电压调整为100-150V, 此时电泳时间需要适当延长。实际电泳时间与电泳液质量、凝胶数量等因素有关系, 需自行适当调整。电泳电源推荐使用碧云天的BeyoPower™中电流电源(300V/600mA/100W) (E6080)或BeyoPower™高电流电源(300V/2000mA/200W) (E6085)。
- 转膜: 推荐使用Western转膜液(P0021A或P0021B)。转膜时, 建议将转膜液中的乙醇或甲醇含量提高至20%-30%, 以提高小分子蛋白的转膜效率。同时建议使用0.22μm的印迹膜进行转膜。通常湿转的电流为300-400mA, 转膜30-60分钟。转膜电源推荐使用碧云天的BeyoPower™高电流电源(300V/2000mA/200W) (E6085), 转膜推荐使用碧云天的MiniBlot™蛋白转膜系统(E6050)或MiniBlot™蛋白转膜转移芯(E6053)。详细的Western操作可以参考碧云天的相关网页:  
<http://www.beyotime.com/support/western.htm>。

### 参考文献:

- Schägger H. Nat Protoc. 2006. 1(1):16-22.
- Haider SR, Reid HJ, Sharp BL. Methods Mol Biol. 2019. 1855:151-160.
- Haider SR, Reid HJ, Sharp BL. Anal Bioanal Chem. 2010. 397(2):655-64.

### 相关产品:

产品编号	产品名称	包装
P0531S	Tricine-SDS-PAGE凝胶配制试剂盒(小分子量蛋白用)	30-50gels
P0532S	BeyoGel™小分子量蛋白预制胶(Tricine, 16.5%, 10孔)	10块
P0533S	BeyoGel™小分子量蛋白预制胶(Tricine, 16.5%, 15孔)	10块
P0739	Tricine-SDS-PAGE Running Buffer (10X)	100/500ml
P0750	BeyoGel™ Tricine SDS Sample Buffer (2X)	2ml/10ml
P0751	BeyoGel™ Tricine-SDS Cathode Running Buffer (10X)	100ml/500ml
P0752	BeyoGel™ Tricine-SDS Anode Running Buffer (10X)	100ml/500ml
ST2767	Tricine (≥99%, Reagent grade)	25g/100g/500g
ST2768	Tricine (≥99%, Reagent grade)	25g/100g/500g