碧云天网站 微信公众号

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

Bis-Tris-PAGE凝胶配制试剂盒

产品编号	产品名称	包装
P0870S	Bis-Tris-PAGE凝胶配制试剂盒	30-50gels

产品简介：

- 碧云天生产的Bis-Tris-PAGE凝胶配制试剂盒(Bis-Tris-PAGE Gel Preparation Kit)，提供了配制Bis-Tris-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Bis-Tris-PAGE凝胶(即聚丙烯酰胺凝胶)。相比于传统的Tris-Glycine体系，Bis-Tris-PAGE凝胶的缓冲液为中性略偏酸，可非常高效地减少蛋白质修饰的干扰，并在电泳过程中保持蛋白质的稳定性，条带更清晰锐利；Bis-Tris-PAGE凝胶配制后不易水解，保存时间比较长；Bis-Tris-PAGE凝胶可使用MOPS或MES的电泳缓冲液，适合不同的蛋白质分离范围；Bis-Tris-PAGE使用LDS上样缓冲液，在样品制备过程中保持碱性pH值，仅需加热至70°C即可使蛋白质完全变性，可有效减少加热至接近100°C时部分Asp-Pro肽键的断裂，以保持蛋白质的完整性。
- 聚丙烯酰胺凝胶电泳(Polyacrylamide gel electrophoresis，PAGE)技术广泛用于蛋白质的分离纯化、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[1]。
- 本试剂盒提供的Gel Buffer采用近中性pH的Bis-Tris缓冲液，不含SDS，建议用于变性蛋白电泳，不建议用于非变性蛋白电泳。电泳时可使用常用的MOPS/MES缓冲系统的SDS-PAGE电泳液，推荐使用BeyoGel™ MOPS SDS Running Buffer (P0741/P0743)或BeyoGel™ MES SDS Running Buffer (P0745/P0747)。MOPS缓冲系统是大分子量和中等分子量蛋白电泳的理想缓冲液，适用于分子量在14-200kDa范围内的蛋白的电泳；MES缓冲系统是低至中分子量蛋白质电泳的理想缓冲液，适用于分子量在2-200kDa范围内蛋白质的电泳。电泳后可以使用Bis-Tris缓冲系统的转膜液进行转膜，推荐使用BeyoGel™ Transfer Buffer (for Bis-Tris Gels) (P0753/P0755)。
- 碧云天同时提供BeyoGel™ Elite PAGE预制胶(Bis-Tris) (P0842-P0867)。
- 本试剂盒约可配制30-50块常规大小的Bis-Tris-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
P0870S-1	30% Acr-Bis (29:1)	100ml
P0870S-2	Gel Buffer (3.5X)	100ml
P0870S-3	凝胶聚合催化剂	0.5g
P0870S-4	TEMED Substitute	0.5ml
—	说明书	1份

保存条件：

4°C保存，一年有效。30% Acr-Bis (29:1)和TEMED Substitute须避光保存。Gel Buffer (3.5X)和凝胶聚合催化剂也可以室温保存。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Bis-Tris-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，并根据下表配制Bis-Tris分离胶(即下层胶)：

不同浓度的Bis-Tris-PAGE分离胶的最佳分离范围：

Bis-Tris-PAGE分离胶浓度	最佳分离范围
8%胶	30-90kD
10%胶	20-80kD
12%胶	12-60kD
15%胶	10-40kD

成分	配制不同体积Bis-Tris-PAGE分离胶所需各成分的体积(毫升)					
8%胶	5	10	20	30	40	50
Ultrapure water	2.19	4.37	8.79	13.22	17.59	21.85
Gel Buffer (3.5X)	1.43	2.86	5.71	8.57	11.43	14.29
30% Acr-Bis (29:1)	1.33	2.67	5.33	8.00	10.67	13.33
10%凝胶聚合催化剂	0.05	0.10	0.15	0.20	0.30	0.50
TEMED Substitute	0.003	0.006	0.009	0.012	0.018	0.03
成分	配制不同体积Bis-Tris-PAGE分离胶所需各成分的体积(毫升)					
10%胶	5	10	20	30	40	50
Ultrapure water	1.85	3.71	7.46	11.22	14.93	18.53
Gel Buffer (3.5X)	1.43	2.86	5.71	8.57	11.43	14.29
30% Acr-Bis (29:1)	1.67	3.33	6.67	10.00	13.33	16.67
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Bis-Tris-PAGE分离胶所需各成分的体积(毫升)					
12%胶	5	10	20	30	40	50
Ultrapure water	1.52	3.04	6.13	9.22	12.26	15.19
Gel Buffer (3.5X)	1.43	2.86	5.71	8.57	11.43	14.29
30% Acr-Bis (29:1)	2.00	4.00	8.00	12.00	16.00	20.00
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Bis-Tris-PAGE分离胶所需各成分的体积(毫升)					
15%胶	5	10	20	30	40	50
Ultrapure water	1.02	2.04	4.13	6.22	8.26	10.19
Gel Buffer (3.5X)	1.43	2.86	5.71	8.57	11.43	14.29
30% Acr-Bis (29:1)	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

5. 按照如下表格配制Bis-Tris-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Bis-Tris-PAGE浓缩胶所需各成分的体积(毫升)					
4%胶	2	3	4	6	8	10
Ultrapure water	1.14	1.71	2.28	3.42	4.56	5.70
Gel Buffer (3.5X)	0.57	0.86	1.14	1.71	2.29	2.86
30% Acr-Bis (29:1)	0.27	0.40	0.53	0.80	1.07	1.33
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. 推荐使用BeyoGel™ LDS Sample Buffer (4X) (P0731)、BeyoGel™ Sample Reducing Agent (10X) (P0733)进行样品的制备和上样，并在电泳缓冲液中添加适量BeyoGel™ Antioxidant (400X) (P0737)，可在电泳过程中最大程度地减少蛋白质氧化，并保持还原型蛋白条带清晰锐利。
7. 具体的电泳步骤如下。
   a. 取出使用本试剂盒配制好的Bis-Tris-PAGE凝胶。
   b. 将凝胶固定在电泳槽中，平稳、缓慢地拔出梳子。
   c. 配制电泳液缓冲液。推荐使用BeyoGel™ MOPS SDS Running Buffer (P0741/P0743)或BeyoGel™ MES SDS Running Buffer (P0745/P0747)。
      注：建议在电泳缓冲液中添加适量BeyoGel™ Antioxidant (400X) (P0737)，本抗氧化剂可在电泳过程中最大程度地减少蛋白质氧化，并保持还原型蛋白条带清晰锐利。
   d. 内槽加满电泳液，外槽加入电泳液最低至1/3液面处，最高不可漫过胶板。电泳槽推荐使用碧云天的MiniProGel™蛋白制胶与电泳系统(E6001/E6005)。
   e. 上样：将10微升枪头或BeyoGold™凝胶电泳上样吸头(1-200μl) (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。
      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。
   f. 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40-60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100-120V，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)。**注：**对于非变性电泳，酸性蛋白(等电点pI<7)正常上样电泳即可；碱性蛋白(等电点pI>7)带正电荷，需将电极反接(即红对黑，黑对红)，此时上样孔为正极，样品向下电泳。
   g. 如果用于Western，按照常规条件进行转膜即可。通常湿转时的电流为300-400mA，转膜60-90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：

1. Hachmann JP, Amshey JW. Anal Biochem. 2005. 342(2):237-45.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
P0731	BeyoGel™ LDS Sample Buffer (4X)	2ml/10ml
P0733	BeyoGel™ Sample Reducing Agent (10X)	2ml/10ml
P0737-10ml	BeyoGel™ Antioxidant (400X)	10ml
P0741	BeyoGel™ MOPS SDS Running Buffer (20X)	100ml/500ml
P0743	BeyoGel™ MOPS SDS Running Buffer (Powder)	1L/10L
P0745	BeyoGel™ MES SDS Running Buffer (20X)	100ml/500ml
P0747	BeyoGel™ MES SDS Running Buffer (Powder)	1L/10L
P0753	BeyoGel™ Transfer Buffer (20X, for Bis-Tris Gels)	100ml/500ml
P0755	BeyoGel™ Transfer Buffer (Powder, for Bis-Tris Gels)	1L/10L
P0846	BeyoGel™ Elite PAGE预制胶(Bis-Tris, 10%, 10孔)	10块/50块
P0847	BeyoGel™ Elite PAGE预制胶(Bis-Tris, 10%, 15孔)	10块/50块
P0849	BeyoGel™ Elite PAGE预制胶(Bis-Tris, 12%, 10孔)	10块/50块
P0850	BeyoGel™ Elite PAGE预制胶(Bis-Tris, 12%, 15孔)	10块/50块
P0852	BeyoGel™ Elite PAGE预制胶(Bis-Tris, 15%, 10孔)	10块/50块
P0853	BeyoGel™ Elite PAGE预制胶(Bis-Tris, 15%, 15孔)	10块/50块
P0856	BeyoGel™ Elite PAGE预制胶(Bis-Tris, 4-15%, 10孔)	10块/50块
P0857	BeyoGel™ Elite PAGE预制胶(Bis-Tris, 4-15%, 15孔)	10块/50块
P0859	BeyoGel™ Elite PAGE预制胶(Bis-Tris, 4-20%, 10孔)	10块/50块
P0860	BeyoGel™ Elite PAGE预制胶(Bis-Tris, 4-20%, 15孔)	10块/50块
P0863	BeyoGel™ Elite PAGE预制胶(Bis-Tris, 8-16%, 10孔)	10块/50块
P0864	BeyoGel™ Elite PAGE预制胶(Bis-Tris, 8-16%, 15孔)	10块/50块
P0866	BeyoGel™ Elite PAGE预制胶(Bis-Tris, 8-20%, 10孔)	10块/50块

P0867	BeyoGel™ Elite PAGE预制胶(Bis-Tris, 8-20%, 15孔)	10块/50块
P0870S	Bis-Tris-PAGE凝胶配制试剂盒	30-50gels

Version 2024.08.21