



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// [www.real-times.com.cn](http://www.real-times.com.cn)

E-mail: [real-times@vip.163.com](mailto:real-times@vip.163.com)

## Tris-醋酸非变性 PAGE 电泳试剂盒（含预制胶）

货号	名称	规格
RTD6156	Tris-醋酸非变性 PAGE 电泳试剂盒（含预制胶）	10 次

### ● 产品组成:

货号	名称	规格	保存
RTD6154-0308	3-8% RealPAGE Tris 醋酸预制胶(U 型板,通用型,12 孔)	10 板/盒	4°C
TG170	10×Tris-甘氨酸电泳缓冲液（非变性电泳, 溶液型）	500 ml	RT
PL111-01	5×非变性非还原蛋白上样缓冲液	1 ml	-20°C
RTD6202	FastBlue 蛋白快速染色液	500 ml	RT
TA5030P	10×Tris-醋酸转膜缓冲液（湿转, 粉末型）	500 ml	RT
	说明书	一份	-

### ● 产品简介:

Tris-醋酸非变性 PAGE 凝胶电泳适合于分离高分子量蛋白, 可以有效分离 50-500 kD 范围内蛋白; 在电泳中, 电泳缓冲体系和上样缓冲液中都不含有变性剂和还原剂, 整个电泳过程都在完全非变性（非变性非还原）条件下进行, 可以很好的保持蛋白的活性和聚体状态。

本公司提供的 Tris-醋酸非变性 PAGE 电泳试剂盒包含预制胶、蛋白上样、蛋白电泳、染色及转膜所需要全部试剂。试剂盒配套的预制胶为梯度凝胶, 浓度为 3-8%, 厚度为 1.1 mm, 12 齿, 每个泳道可以上样最大 30  $\mu$ l 样品。

本试剂盒用于蛋白非变性电泳, 不能用于变性电泳, 本试剂盒可以使用 10 次。

### ● 贮存及运输:

按照标签温度贮存; 试剂盒常温运输。

### ● 使用说明:

#### 一. 电泳:

1.1 拆开预制胶包装, 将预制胶安装在合适的电泳槽中。

注: 伯乐 Mini III 或 Mini-PROTEAN Tetra Cell, 天能 VE-180, 六一 24K 系列电泳槽请确保密封条的安装方向(如图)。

六一其他系列, 君意东方 JY-SCZ2/4, 百晶

BG-verMINI 等电泳槽可以直接使用预制胶。

不兼容 Thermol 系列电泳槽。



1.2 准备 1×电泳缓冲液:

总体积	500 ml
10×Tris-甘氨酸电泳缓冲液（非变性电泳, 溶液型）	50 ml
超纯水	450 ml

### 1.3 准备上样样品:

注: 表格以配制 10  $\mu$ l 样品为例, 其他体积按照比例调整。

组份	总体积 10 $\mu$ l
蛋白样品	x $\mu$ l
5 $\times$ 非变性非还原蛋白上样缓冲液	2 $\mu$ l
超纯水	补至 10 $\mu$ l
	不要加热

### 1.4 电泳过程:

在电泳槽的内槽内加入 1 $\times$ 电泳缓冲液(让电泳缓冲液漫过加样孔), 轻轻的拨出梳子, 用 1ml 吸头冲洗加样孔 3 次; 随后在电泳槽外槽加入适量的 1 $\times$ 电泳缓冲液。上样, 电泳。

恒电压	起始电流	结束电流	电泳时间
150V	40-55 mA/板胶	25-40 mA/板胶	60+min
注: 冰浴电泳 (可选)			

## 二. 染色:

- 2.1 将电泳后的 PAGE 胶取下放入塑料容器中, 加入适量 FastBlue 蛋白染色液 (以刚刚覆盖过胶面为适), 摇床常温摇动, 条带 5-10 分钟即可见 (蛋白含量高于 1  $\mu$ g 条带)。
- 2.2 摇床常温继续摇动 15-30 分钟至条带清晰可见。
- 2.3 加入适量蒸馏水脱色, 期间更换 1-2 次蒸馏水, 摇床常温摇动 10-15 分钟至背景干净。
- 2.4 观察保存结果。
- 2.5 染色示例:

## 三. 转膜:

### 3.1 转印膜选择:

Tris-醋酸凝胶转膜可以使用 NC 膜和 PVDF 膜, 需要选择 0.45  $\mu$ m 孔径。PVDF 膜使用前注意需要用甲醇润湿活化。

### 3.2 10 $\times$ Tris-醋酸转膜缓冲液 (溶液型) 配制:

将 10 $\times$ Tris-醋酸转膜缓冲液 (湿转, 粉末型) 粉末溶解于 500 ml 超纯水中, 即配成 500 ml 10 $\times$ Tris-醋酸转膜缓冲液 (溶液型), 不要调节 pH, pH $\sim$ 7.2。

### 3.3 准备 1 $\times$ 转膜缓冲液:

		1 $\times$ 即用型转膜缓冲液 配制量 1 升	
10 $\times$ Tris-醋酸转膜缓冲液(溶液型)		100 ml	
		变性蛋白	非变性蛋白
<20 kD 蛋白	无水甲醇	20%	5-10%
	SDS	0.01%	0.01%
20-80 kD 蛋白	无水甲醇	10%	0-5%
	SDS	0.05%	0.05%
>80 kD 蛋白	无水甲醇	10% (NC 膜)	0%
	SDS	0.1%	0.1%
超纯水		定容至 1 升, 不要调节 pH, pH $\sim$ 7.2	

注：甲醇和 SDS 在转膜中有拮抗作用。甲醇使蛋白更加结合在膜上，而 SDS 让蛋白更加离开膜。因此对大蛋白转膜来说，多加 SDS，少加甲醇；而对小蛋白转膜，多加甲醇，少加 SDS。

### 3.4 转膜条件：

以下转膜条件仅供参考，客户针对自己的目的蛋白大小，最好经过预实验后，确定最佳的转膜条件。

膜孔径	蛋白大小	稳流	建议时间	降温措施
0.22 $\mu\text{m}$	低于 20 kD	200 mA	~30 分钟	不需要
0.45 $\mu\text{m}$	20-50 kD	300 mA	~45 分钟	需要
0.45 $\mu\text{m}$	50-200 kD	350 mA	~50 分钟	需要
0.45 $\mu\text{m}$	高于 200 kD	350 mA	~2.5-4.5 小时	需要