



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// www.real-times.com.cn

E-mail: real-times@vip.163.com

16.5% RealPAGE Tricine 预制胶（通用型 U 型玻璃板）

Ver.750267-30

| 货号 | 名称 | 规格 |
|--------------|---------------------------------------|--------|
| RTD6115-0016 | 16.5% RealPAGE Tricine 预制胶 通用型 U 型玻璃板 | 10 板/盒 |

● 产品简介：

RealPAGE Tricine 预制胶可以用来检测 2.5-40 kD 的多肽大小。预制胶玻璃板尺寸 10×8.2 cm，凝胶尺寸 8.2×7.2 cm，凝胶厚度 1.1 mm，梳子 12 齿，最大上样体积 30 μ l，兼容伯乐电泳槽。

● 贮存、运输和效期：

4-8 度贮存（切勿冷冻）；常温运输；有效期 1 个月。

● 使用说明：

一. 电泳缓冲液配制：

10×Tris-Tricine-SDS 缓冲液（10×TTS）配制：

将 10×Tris-Tricine-SDS 缓冲液粉末（Cat No: CB010P）置于一干净的一升烧杯中，加入 500 ml 超纯水，彻底搅拌均匀，不要调节 pH，即配成 500 ml 10×TTS 缓冲液。

1×TTS 缓冲液配制

| | 1×TTS 配制量 500 ml | 1×TTS 配制量 1000 ml |
|--------|------------------|-------------------|
| 10×TTS | 50 ml | 100 ml |
| 超纯水 | 450 ml | 900 ml |

注：10×Tris-Tricine-SDS 缓冲液配方[1 M Tris; 1 M Tricine ;1% SDS; ~pH 8.3]:

Tris 碱 121.14 g; Tricine 179.2 g; SDS 10 g, 用蒸馏水溶解，定容至 1000 ml(不用调 pH)，4-8℃贮存，使用前稀释成 1×缓冲液使用。

二. 样品处理（变性还原样品）：

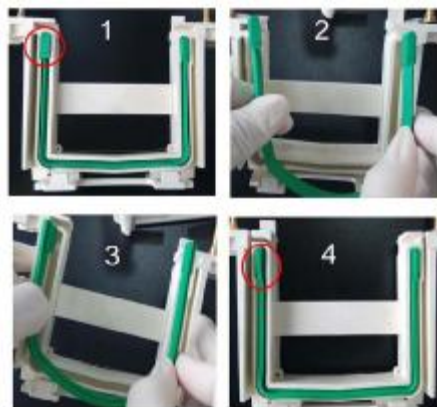
待上样的检测样品与 2×Tricine 多肽上样缓冲液[Cat:TP050]等体积混合，95℃处理 5 分钟后上样。蛋白 Marker 一般已经含有上样缓冲液，根据说明书上样（预染 Marker 不能加热处理，非预染 Marker 上样前一般要 95℃处理 5 分钟）。

三. 电泳：

3.1 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。

3.2 将电泳槽的内槽加满 1×TTS 缓冲液，轻柔拔出梳子，用 1ml 移液器将梳孔吹洗干净，将 Marker 或蛋白样



品（已经过处理）加入点样孔，稳压电泳（表 1），至蓝色指示前沿至分离胶下沿位置时即可停止电泳。整个电泳过程大约需要 150 min。

表 1 多肽电泳条件

| | 电压 | 电流变化 | 电泳时间 |
|-----|----------|-----------------------------------|----------|
| 浓缩胶 | 恒压 80 V | 起始电流：30-35 mA 终止电流：25-30 mA | ~20 min |
| | | 注：等待样品指示前沿到达分离胶上沿时，调高电压 | |
| 分离胶 | 恒压 120 V | 起始电流：40-45 mA 终止电流：15-20 mA | ~130 min |
| | | 注：恒压条件下，电流不可调节，电流是逐渐降低的，观察记录电流数值。 | |

四. 染色：（使用 **FastBlue 蛋白染色液 Cat:RTD6202**）

- 4.1 将电泳后的 PAGE 胶取下放入塑料容器中，加入适量染色液（以刚刚覆盖过胶面为适），蛋白条带含量高于 1 μ g 的，染色 1-2 分钟即可见。
- 4.2 摇床上常温摇动 10-15 分钟，至条带清晰可见满足实验要求后停止染色。
- 4.3 蒸馏水漂洗凝胶，在蒸馏水中脱色摇动 10-15 分钟，至凝胶基本无蓝色背景，拍照记录结果。

五. 转膜：

多肽转膜选择孔径 0.22 μ m PVDF 膜（用前用甲醇处理润湿）或 0.22 μ m NC 膜。

5.1 半干转：

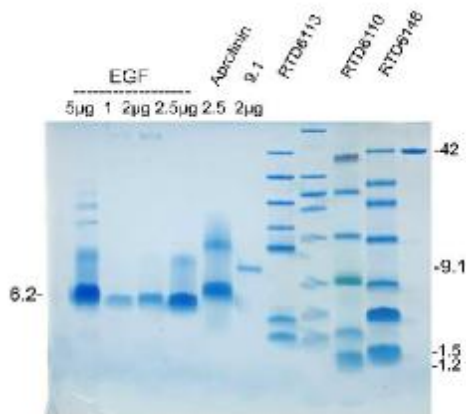
使用伯乐 Trans-Blot Turbo 半干转机器请选择配套的 5 \times RealBlot 快速半干转转膜缓冲液（货号：RT5030）。转膜推荐条件：一板小型凝胶（8 \times 10 cm）恒流，1.3 A，7-10 min。

5.2 湿转：

湿转转膜缓冲液：25 mM Tris, 192 mM Glycine, 20% Methanol, pH~8.3;

转膜条件：恒流 200-300 mA 40-60 min

六.实验示例：



16.5% RealPAGE Tricine 预制胶
1 \times Tris-Tricine-SDS 电泳缓冲液
浓缩胶 80V 15min; 分离胶 120V 185min
FastBlue 蛋白染色液 染色 30 min