

蛋白电泳预制胶 (Tricine) 说明书

【产品名称】

蛋白电泳预制胶 (Tricine)

【产品介绍】

四正柏提供的 Tricine 凝胶体系蛋白电泳预制胶是一款安全、快捷、高性能的预制聚丙烯酰胺凝胶，常用于 PAGE 和 Western Blot 检测。

- 超高分辨率，最小可分离 1.7KD 的分子
- 采用自动化的灌胶生产技术，确保了产品质量的高稳定性和重复性
- 采用玻璃胶板，有效减少蛋白非特异性吸附，使蛋白条带更为尖锐，清晰
- 胶夹打开极为轻松，只需用刀片在胶夹一侧轻轻一划即可打开
- 凝胶中不含 SDS，可用于变性和非变性电泳
- 兼容市场上主流的 mini 电泳槽，如 BIORAD, Invitrogen, 天能和君意东方等

【基本信息】

预制胶板尺寸：长 98mm，宽 84mm，厚度 4.1mm

预制胶尺寸：长 81mm，宽 74mm，厚度 1.5mm

浓缩胶：4%，1.5cm

丙烯酰胺与甲叉丙烯酰胺的比例：29:1

包装规格：10 片/盒

【储存条件及有效期】

1. 2~8℃冷藏，不可冷冻，保质期 1 个月
2. 常温运输
3. 冬季，泡沫盒保温运输

【订购信息】

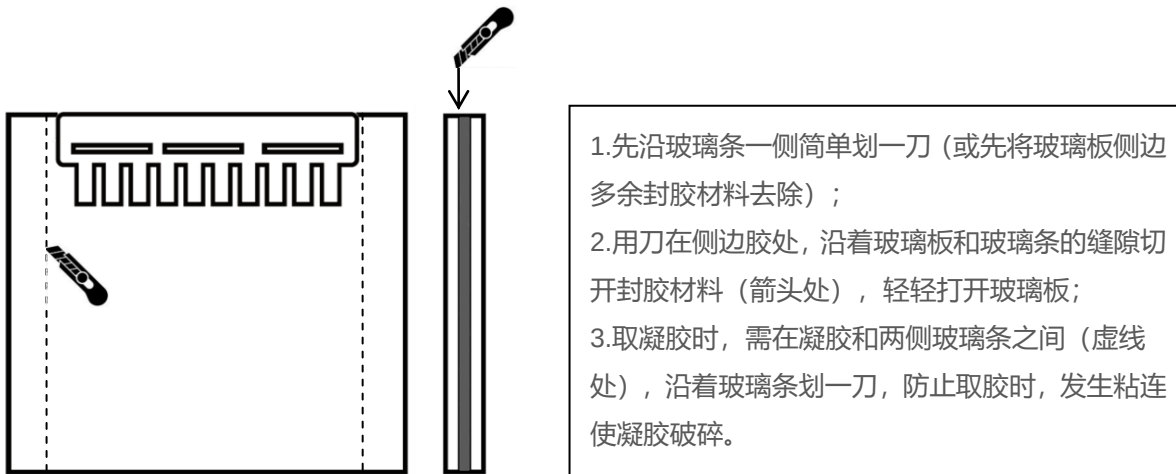
产品编号	浓度	孔数	最大上样量	电泳缓冲液	转膜缓冲液	分离范围
4APA034T-165T	16.5%	10	60μl	Tricine	Tris-Glycine	2-40 KDa
4APA034T-165F	16.5%	15	30μl	Tricine	Tris-Glycine	2-40 KDa

【电泳操作说明】

电泳缓冲液：自配或者建议购买本公司 4APA016-05 跟 4APA017-05 阴阳极电泳缓冲液，5×阴阳极电泳缓冲液分别稀释成 1×溶液。

1. **取胶片** 沿拆封口打开小包装，小心取出预制胶片；
2. **装胶片** 将预制胶装入兼容电泳槽中，并检漏，电泳槽兼容信息详见文末兼容设备；
3. **加电泳缓冲液** 取相应的 1×电泳缓冲液，在内外槽分别加入阴极和阳极电泳缓冲液；
4. **拔梳子** 双手平稳缓慢地将梳子拔出，用移液器吸取电泳液轻轻吹打加样孔，去除加样孔残余的储存缓冲液；
5. **加样** 将蛋白样品与 5×loading buffer 按 4:1 比例混合均匀，加入处理。注意枪不要戳破凝胶，不要过度插入梳孔使胶板变形造成漏液。
6. **电泳** 设置参数，150V，40-50min，然后开始电泳，当溴酚蓝指示带电泳至胶板底部，或实验预定位置时，即可结束电泳；
7. **拆胶** 电泳结束后将预制胶取出，用刀去除一侧封胶材料，即可打开玻璃板，在胶的右下角切小三角形作标记，然后在凝胶与玻璃条之间，沿着玻璃条划一刀（防止取胶时，发生粘连使胶破碎），取胶，继续后续的

染色或转膜实验。



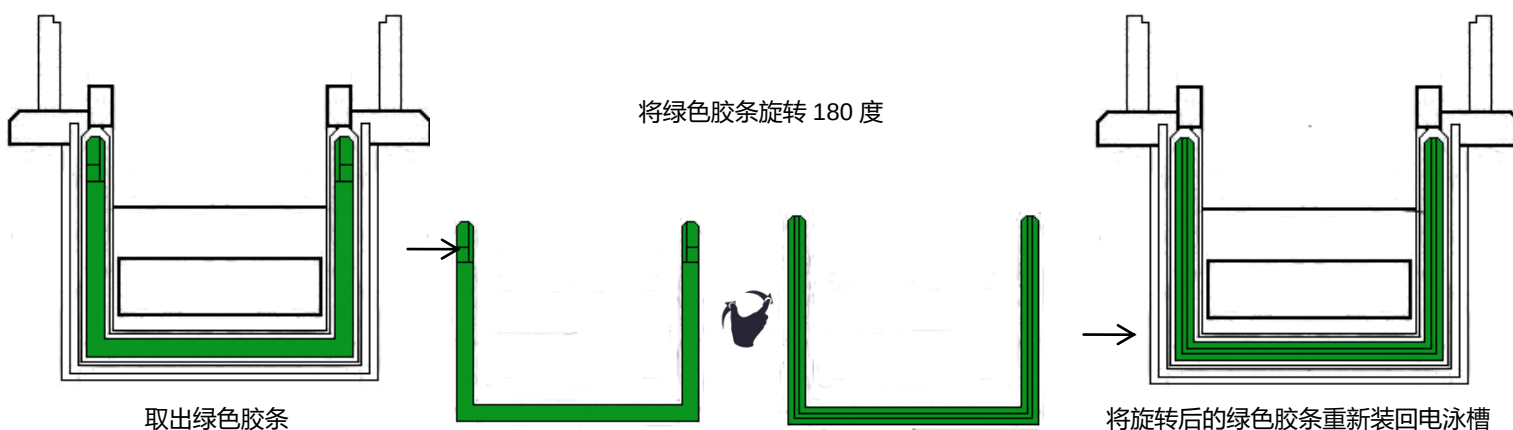
【注意事项】

1. 不可冻存，以免发生冻裂，无法使用。
2. 上样时，枪头不要过度插入梳孔或斜插加样，以免戳破凝胶造成漏液。
3. 为了您的安全和健康，请在进行实验时，按照常规实验操作防护措施穿实验服并戴一次性手套口罩进行操作。

【兼容电泳槽】

四正柏预制胶可兼容大部分的 mini SDS-PAGE 电泳槽：

- Bio-Rad Mini-PROTEAN(II/3/Tetra System)（需按如下方式改造）
Bio-Rad Mini-PROTEAN 系列电泳槽中绿色 U 型密封条两端凸起为正面。如下图所示，密封条拉出并反转，正面（凸起）朝里，重新装回电泳槽中，注意将密封圈周边压实，防止发生漏液。放置好预制胶后即可进行正常的电泳操作。



- Hoefer Mighty Small(SE250/SE260/SE280)
- Life Technology Novex Mini-Cell（需增加特制挡板，如需挡板请联系四正柏技术支持申请），挡板的具体使用方法：将挡板与胶并排放进电泳槽中，将夹板卡住，向内槽中注入缓冲液，观察是否有漏液情况，如漏液情况还存在，可再增加一片挡板，直至无漏液现象为止。
- 北京六一 DYCZ-25E、DYCZ-24K、DYCZ-24KS、DYCZ-24KF
- 君意东方 JY-SCZ2+
- 天能 VE180

➤ 或其它胶板宽度在 10cm 的电泳槽

备注说明：四正柏预制胶符合大部分国产电泳槽宽度，因此使用时无需增加挡板，对于 Life 品牌电泳槽而言相对较薄，所以我们提供一个 2mm 厚的特制挡板，使得预制胶能适用于 Life Technology Novex Mini-Cell 电泳槽。

【常见问题解答】

常见问题	可能原因	建议解决方案
高浓度条带样品 同时出现在相邻泳道	样品量多或加到相邻条带	降低上样量，如有溢出，使用缓冲液冲洗上样孔。
	上样孔破损	移除制孔梳时加倍小心，如上样孔破损，换用新凝胶。
	凝胶干缩	打开包装后，尽快进行电泳。 可将凝胶在电泳缓冲液中浸泡一段时间，待凝胶恢复形状后上样。
蛋白分离效果不佳	样品含盐量过高	使用透析、超滤，或稀释等方法降低盐浓度。
		提高电泳缓冲液用量，或使用冰袋对缓冲液降温等改善效果。
电泳时溴酚蓝带扭曲 电泳时间大幅度延长	内槽缓冲液泄露	重新夹一下胶板，防止在电泳过程中内槽液面逐步降低。
	上样孔中有气泡 或残留凝胶保存缓冲液	上样前，用移液枪吸取缓冲液轻轻冲洗上样孔，将气泡吹走。
	样品蛋白浓度过高	使用上样缓冲液稀释蛋白样品
	凝胶安装不当，内槽漏液	检查内槽密封条，垫片等附件是否安装恰当。
	电压设置有误， 或电泳缓冲液使用不当	确认凝胶安装位置，重新安装凝胶。 严格按照本说明书提供配方配置电泳缓冲液。
电泳后 条带模糊、变黄	电泳缓冲液 PH	使用透析、超滤，或稀释等方法降低盐浓度。
	凝胶浓度选择不当	根据凝胶最佳分离范围选用不同浓度凝胶。对于小分子蛋白的分离，请选用较高分离胶浓度的预制胶产品。
	蛋白量超出凝胶分离能力	提高电泳缓冲液用量，或使用冰袋对缓冲液进行降温。
电泳时 泳道拖尾严重 点样孔样品滞留明显	样品裂解处理不充分，	裂解处理不够充分。建议降低裂解前的样品浓度，或增加裂解液的比例，使样品充分裂解
	Loading buffer 处理不充分。	Loading buffer 处理不充分。建议对裂解后的样品进行稀释后，再进行 loading buffer 处理。
	样品中含有较大颗粒杂质如细胞碎片、菌体碎片。	高速离心后，取上清液电泳。
电泳带呈微笑状 (中间凹陷，两边突起)	样品盐离子浓度或表面活性剂浓度过高	稀释样品或对样品进行透析后，再进行 loading buffer 处理和上样。
电泳时条带有重影	loading buffer 中的还原剂失效	在 loading buffer 中加些 DTT
电泳时，电流显示异常，不在常规范围之内	电泳液的质量、电极是否插反、内槽电泳液是否有漏液现象	1. 对于 HEPES 体系预制胶，电压为 150V 电泳时，一块胶的电流在 80mA 左右，2 块胶的电流在 140mA 左右，随着时间增加电流也会逐渐降低。

		2. 对于 Tris-Glycine 体系预制胶, 电压为 180V 电泳时, 1 块胶的电流在 49mA 左右, 2 块胶的电流在 99mA 左右, 随着时间增加电流会逐渐降低。
湿转时, 转膜效果不好	凝胶浓度、转膜时间的控制、甲醇浓度的选择	湿转时 120V 恒压转膜 60-90min。可根据预制胶上残留预染 marker 及膜上的预染 marker 确定转膜效率, 并对转膜液中甲醇浓度进行适当调整。蛋白分子量 10-100KDa, 可调整甲醇浓度为 10%; 10KDa 以下, 可调整甲醇浓度为 20-30%。此外, 蛋白分子量<20KDa 时, 建议选择孔径为 0.22μm 的膜。

【Buffer 配方】

1X Tricine Running Buffer	
阳性缓冲液 anode buffer (1×)	阴性缓冲液 cathode buffer (1×)
0.2 M Tris, 用 HCl 调 pH 至 8.9	0.2M Tris, 0.1M Tricine, 0.1% W/V SDS

5X Loading Buffer	
For SDS-PAGE	For Native-PAGE
SDS 1.0 g	甘油 5.0 ml
甘油 5.0 ml	溴酚蓝 25 mg
溴酚蓝 25 mg	Tris base 150 mg
Tris base 150 mg	去离子水 (使用 8 M NaOH 或 8 M HCl 调 pH 至 6.8) 加至 10 ml
β-巯基乙醇 1.0 ml	
去离子水 (使用 8 M NaOH 或 8 M HCl 调 pH 至 6.8) 加至 10 ml	

【电泳相关部分产品目录】

产品编号	产品名称	产品规格
MPM9207-1	彩色预染超宽范围蛋白 Marker (6.5-270KDa)	250ul×1
MPM9202-1	彩色预染蛋白 Marker(10.5-175 kDa)	250 ul×1
MPM9203-1	彩色预染蛋白 Marker(11-180 kD)	250 ul×1
MPM9204-1	彩色预染宽范围蛋白 Marker(11-245 kDa)	250 ul×1
MPM9205-1	彩色预染宽范围蛋白 Marker(5-245 kDa)	250 ul×1
MPM9206-1	预染宽范围蛋白 Marker(10-180 kDa)	500ul×1
MPM9201	非预染低分子量蛋白 Marker(14.4-97KDa)	0.5ml
4APA016-05	Tris-Tricine 阳极缓冲液(5X)	500ml
4APA017-05	Tris-Tricine 阴极缓冲液(5X)	500ml
4APA009	SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(1×)	10ml
4APA010	SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(2×)	5ml
4APA008-02	SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(5×)	2ml
4APA011	SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(6×)	2ml
4APA012	非变性 PAGE 蛋白上样缓冲液(5×)	2ml
4APA013	非变性非还原性蛋白上样缓冲液(5×)	2ml