



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-SDS-PAGE 电泳试剂盒（变性电泳）

Ver.760558-3.0

货号	名称	规格
RTD6155	Tris-醋酸-SDS-PAGE 电泳试剂盒（变性电泳）	10 次

### ● 产品组成：

序号	货号	名称	规格	保存
1	RTD6154-0308	3-8% RealPAGE Tris 醋酸预制胶 (U 型板,通用型,12 孔)	10 板/盒	4℃
2	TA1510	400×抗氧化剂	15 ml	4℃ (配制后-20℃贮存)
3	TA050	10×Tris-醋酸-SDS 电泳缓冲液(变性电泳,溶液型)	500 ml	RT
4	PL080-01	5×MonoClolor 蛋白上样缓冲液 (变性, 还原)	1 ml	-20℃
5	RTD6202-02	FastBlue 蛋白快速染色液	500 ml	RT
6	TA5030P	10×Tris-醋酸转膜缓冲液 (湿转, 粉末型)	500 ml	RT
7		说明书	一份	-

### ● 产品简介：

Tris-醋酸-SDS-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；电泳体系呈中性，抑制半胱氨酸的二次氧化，防止二硫键在凝胶中交联；在变性还原电泳中，电泳缓冲体系中加入抗氧化剂，整个电泳过程都在还原条件下进行，有效防止二硫键的形成。

本公司提供的 Tris-醋酸-SDS-PAGE 电泳试剂盒包含预制胶、蛋白上样、蛋白电泳、染色及转膜所需的全部试剂。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。

本试剂盒用于蛋白变性电泳，本试剂盒可以使用 10 次。

### ● 贮存、运输及效期：

按照标签温度贮存（**预制胶不能低于 4℃ 贮存**）；试剂盒常温运输；**有效期 1 个月**。

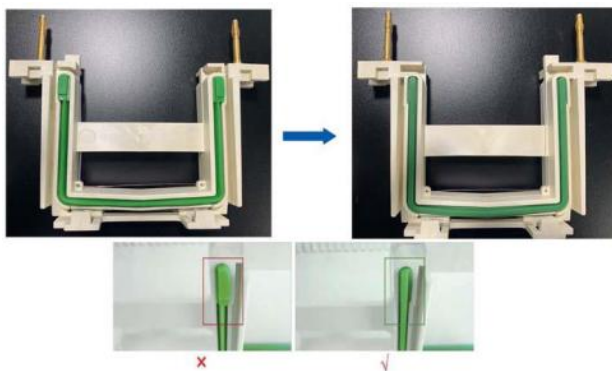
### ● 使用说明：

#### 1. 实验准备：

400×抗氧化剂为干粉，常温贮存。用前加入 15 ml 超纯水震荡彻底溶解后使用，已经溶解的 400×抗氧化剂-20℃贮存。

#### 2. 电泳：

2.1 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。

## 2.2 准备 1×电泳缓冲液：

组份	配制量
	<b>1000 ml</b>
10×Tris-醋酸-SDS 电泳缓冲液	100 ml
超纯水	900 ml

2.2.1 外槽缓冲液：取适量体积 1×电泳缓冲液用于外槽缓冲液。

2.2.2 内槽缓冲液：对于还原样品电泳，200 ml 1×电泳缓冲液中加 0.5 ml 400×抗氧化剂，混合均匀后用于内槽缓冲液。对于非还原样品电泳，直接在内槽中加入 1×电泳缓冲液，不要添加 400×抗氧化剂。

## 2.3 准备上样样品：

蛋白样品中加入 相应体积 5×MonoClolor 蛋白上样缓冲液（变性，还原），95℃加热处理 5-10 min；对于多次跨膜蛋白（Multi-pass membrane protein）的变性电泳检测，样品建议使用 37℃处理 30 分钟或者 50℃处理 10 分钟，不要 95℃加热 5 分钟，因为在 95℃高温情况下，多次跨膜蛋白极易聚集形成多聚体，样品会聚集，WB 检测会表现为比实际蛋白大小更大的分子量；

## 2.4 电泳过程：

在电泳槽的内槽内加入 1×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×电泳缓冲液。上样，电泳。

恒电压	起始电流	结束电流	电泳时间
150 V	40-55 mA/板胶	25-40 mA/板胶	60+min
注：恒压电泳时，电流是变化的，逐渐降低，参考电流变化范围			

## 3. 染色：

3.1 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 μg 条带）。

3.2 摇床常温继续摇动 15-30 分钟至条带清晰可见。

3.3 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。

3.4 观察保存结果。

## 4. 转膜：

### 4.1 转印膜选择：

Tris-醋酸凝胶转膜可以使用 NC 膜和 PVDF 膜，根据蛋白大小选择膜孔径。PVDF 膜使用前注意需要用甲醇润湿活化。

#### 4.2 10×Tris-醋酸转膜缓冲液（溶液型）配制：

将 10×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×Tris-醋酸转膜缓冲液（溶液型），不要调节 pH，pH~7.2。

#### 4.3 准备 1×转膜缓冲液：

		1×即用型转膜缓冲液 配制量 1 升
	<b>10×Tris-醋酸转膜缓冲液</b>	<b>100 ml</b>
	超纯水	约 500 ml
<b>&lt;20 kD 蛋白</b>	无水甲醇	20%
	SDS	-
<b>20-80 kD 蛋白</b>	无水甲醇	10%
	SDS	-
<b>&gt;80 kD 蛋白</b>	无水甲醇	10% (NC 膜) / 0-5% (PVDF 膜)
	SDS	0.05-0.1%
	<b>超纯水</b>	<b>定容至 1 升，不要调节 pH，pH~7.2</b>

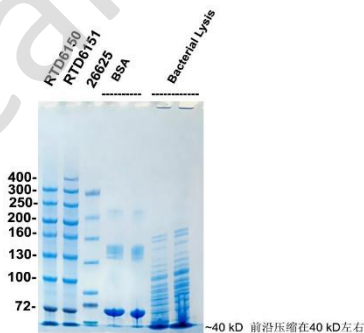
注：甲醇和 SDS 在转膜中有拮抗作用。甲醇使蛋白更加结合在膜上，而 SDS 让蛋白更加离开膜。因此对大蛋白转膜来说，多加 SDS，少加甲醇；而对小蛋白转膜，多加甲醇，少加 SDS。

#### 4.4 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，最好经过1-2次预实验后，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 μm	低于 20 kD	200 mA	~30 分钟	不需要
0.45 μm	20-50 kD	300 mA	~45 分钟	需要
0.45 μm	50-200 kD	350 mA	~50 分钟	需要
0.45 μm	高于 200 kD	350 mA	~2.5-4.5 小时	需要

#### 5. 实验示例：



凝胶：3-8% Tris-醋酸预制胶（RTD6154-0308）

电泳条件：1×Tris-醋酸-SDS 电泳缓冲液，恒压 150V 49-30 mA  
65min

染色：FastBlue 快速染色液（RTD6202），染色 30 min