



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

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

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

## 超低分子量蛋白电泳试剂盒（非变性）（货号：RTD6121）

说明书 Ver 710963

### ● 产品组成：

组分货号	组分	名称	规格	贮存	运输
RTD6121-01	组分 1	2×多肽电泳浓缩胶缓冲液	15 ml	4℃	常温
RTD6121-02	组分 2	2×多肽电泳分离胶缓冲液	30 ml	4℃	常温
RTD6121-03	组分 3	2×PAA 溶液 超低浓缩胶用	15 ml	4℃	常温
RTD6121-04	组分 4	2×PAA 溶液 超低分离胶用	30 ml	4℃	常温
AP020P	组分 5	10% APS（干粉）	5 ml	常温	常温
TA0761-01	组分 6	TEMED	0.5 ml	常温	常温
CB020P	组分 7	10×Tris-Tricine 电泳缓冲液（10×TT）	500 ml（干粉）	常温	常温
TP070	组分 8	2×Tricine 上样缓冲液（非变性，非还原）	1 ml	-20℃	常温
RTD6202-02	组分 9	FastBlue 蛋白染色液	500 ml	常温	常温

### ● 产品简介：

本试剂盒含有超低分子量蛋白电泳（多肽电泳）全套试剂，可以用来检测非变性条件下 1-20 kd 的多肽大小。本试剂盒可配制至少 10 块常规大小的 PAGE 胶（8×10cm）。具有以下特点：

1 配套试剂不含任何变性剂如 SDS 和还原剂如 DTT 或巯基乙醇，适用于非变性电泳。

注：凝胶和电泳缓冲液 pH 在 8.3 左右，非变性电泳适于检测等电点小于 8.3 的蛋白，等电点近似或大于 8.3 的碱性蛋白不适合检测。

2 分辨率高：凝胶缓冲液独特配方，可以有效分离 1-5 kD 多肽。

3 使用方便：配制凝胶时只需 1:1 混合 2×凝胶缓冲液和 2×PAA 溶液，加上 APS 和 TEMED 即可配制凝胶。

### ● 贮存和效期：

按照标签温度贮存；开封后有效期一年。

### ● 使用说明：

#### 一. 10% APS 配制：

**10% APS 配制-5 ml：**将 APS 干粉溶于 5 ml 灭菌水中，彻底溶解后分装，1 ml/支，-20℃ 备存，每次取一管使用。10% APS 应尽量减少常温存放时间，以防失效。10%APS 在 4℃ 有效期为一周，-20℃ 有效期 6 个月。若发现凝胶聚合时间延长，应考虑更换使用-20 度保存的 10% APS。

#### 二. 制胶：

##### I 配制分离胶

1. 按照表一将不同体积的成分加入到小烧杯或离心管中混合；立即混匀 5-10 秒，以使溶液充分混匀。

表一 （一块 1 mm mini 胶用量）\*

	分离胶	浓缩胶
	18%T/5 ml	5%T/2 ml
2×多肽电泳浓缩胶缓冲液	/	1 ml
2×多肽电泳分离胶缓冲液	2.5 ml	/
2×PAA 溶液 超低浓缩胶用	/	1 ml
2×PAA 溶液 超低分离胶用	2.5 ml	/
10%APS	25-50 μl**	20-30 μl
TEMED	2.5-5 μl	2 μl

注：\* 如非必须，不要使用厚度 1.5mm 的凝胶，尽量使用厚度 0.75mm 和 1mm 的凝胶，这样会减少电泳后染色和

脱色的时间。

\*\* 凝胶的聚合时间与环境温度有关。夏天温度较高时，聚合较快；冬天气温低时，聚合时间会延长。可以根据表二的标准条件调节催化剂的加入量。

表二 凝胶制备凝固时间表

环境温度	20℃		25℃	
	分离胶配制	浓缩胶配制	分离胶配制	浓缩胶配制
分离胶配制量	5 ml	-	5 ml	-
浓缩胶配制量	-	2 ml	-	2 ml
10%APS	50 $\mu$ l	20 $\mu$ l	25 $\mu$ l	20 $\mu$ l
TEMED	5 $\mu$ l	2 $\mu$ l	2.5 $\mu$ l	2 $\mu$ l
凝固时间	5-10 分钟	20-30 分钟	5-10 分钟	20-30 分钟

- 在凝胶模具中迅速灌入适量分离胶溶液，然后在分离胶溶液上轻轻覆盖一层 1-3 cm 的无水乙醇层，使凝胶表面保持平整。
- 静置 5-10 分钟，待分离胶和乙醇层之间出现一个清晰的界面表示凝胶已聚合。

## II 配制浓缩胶

去除覆盖在分离胶上的乙醇层，用滤纸将残留的乙醇吸去。

- 按照表一将不同成分加入到小烧杯或离心管中混合；立即混匀 5-10 秒，以使溶液充分混匀。
- 将梳子插入凝胶内，避免产生气泡。
- 静置 20-30 分钟待凝胶聚合

## 三. 电泳:

### 1. 10×Tris-Tricine 缓冲液配制:

将 10×Tris-Tricine 缓冲液 (10×TT) 粉末 (Cat No: CB020P) 置于干净的一升烧杯中，加入 500ml 超纯水，彻底搅拌均匀，不要调节 pH，即配成 500ml 10×TT 缓冲液。

表三 1×TT 缓冲液配制

	1×TT 配制量 500 ml	1×TT 配制量 1000 ml
10×TT	50 ml	100 ml
超纯水	450 ml	900 ml

注：伯乐 Mini III 电泳槽一次电泳使用 500ml 1×TT 缓冲液。

### 2. 样品处理:

待上样的检测样品与 2×Tricine 上样缓冲液 (非变性，非还原) [Cat No: TP070] 等体积混合，不要加热，上样。蛋白 Marker 选择非变性专用 Marker，根据说明书使用。将电泳槽的内槽加满 1×TT 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 (表四)，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 2.5-3 个小时。

表四 多肽电泳条件

恒电压	150V
起始电流	60-75mA/板胶
结束电流	15-25mA/板胶
电泳时间	2.5-3 小时

## 四. 染色 (使用组分 9-FastBlue 蛋白染色液):

- 将电泳后的 PAGE 胶取下放入塑料容器中，蒸馏水漂洗一次；弃水，加入适量染色液 (以刚刚覆盖过胶面为适)，条带 1-2 分钟即可见。
- 摇床上常温摇动 10-15 分钟至条带清晰；观察结果。