



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

Tris-醋酸-SDS-PAGE 电泳试剂盒(含塑料板预制胶,变性电泳)

Ver.760558-3.0

货号	名称	规格
RTD6155P	Tris-醋酸-SDS-PAGE 电泳试剂盒(含塑料板预制胶,变性电泳)	10 次

● 产品组成:

序号	货号	名称	规格	保存
1	RTD6154-0308P	3-8% RealPAGE Tris 醋酸预制胶 (塑料板)	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	RT5050	10×湿转转膜缓冲液(适用 Tris 醋酸胶高分子量蛋白)	500 mL	4℃
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 kDa 范围内蛋白;电泳体系接近中性,有助于减少蛋白中巯基的氧化及二硫键重新形成;在变性还原电泳时,电泳缓冲液中加入抗氧化剂,使电泳过程中保持还原环境,进一步减少二硫键重新形成。

本试剂盒包含预制胶以及蛋白上样、电泳、染色和湿转所需试剂,可完成 10 次电泳实验和 5 次湿转实验。

技术规格	
塑料胶板尺寸	10×8.2 cm
凝胶尺寸及厚度	凝胶尺寸 8.2×7.2 cm, 胶厚度约 1.1 mm
梳孔	12 齿
凝胶浓度	梯度浓度 3-8%
推荐上样体积	最优上样体积 10-20 μL, 最大上样体积 35 μL
检测分子量范围	最佳分离范围 50-500 kDa
推荐染色方法	推荐使用 FastBlue 蛋白染色液 (RTD6202) 快染
电泳缓冲液	Tris-醋酸-SDS 电泳缓冲液 (TA050, TA050P, TA060)
推荐上样缓冲液	5×MonoClolor 蛋白上样缓冲液 (变性, 还原) (PL080) 5×速溶型蛋白上样缓冲液 (PL120, PL121)
推荐电泳条件	恒压 150 V 至电泳结束, 电泳时间约 60 min
转膜	10×湿转转膜缓冲液(适用 Tris 醋酸胶高分子量蛋白) (RT5050)
适用范围	蛋白变性电泳, 不推荐用于非变性电泳。

● 贮存、运输及效期：

各组分按照标签标示温度贮存，**预制胶不可冷冻**。试剂盒可常温运输，有效期为 1 个月。

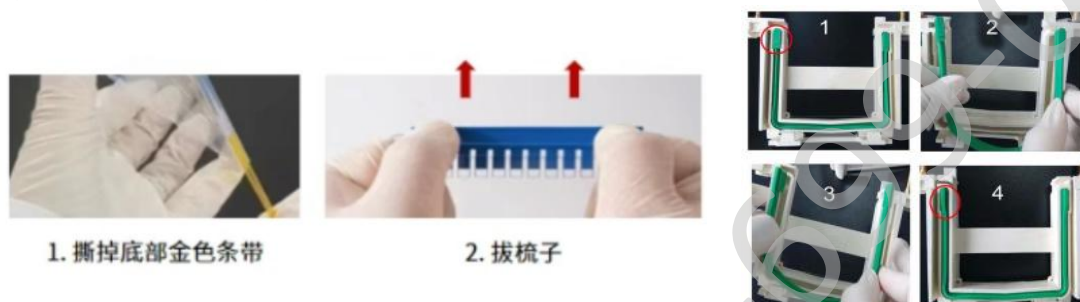
● 使用说明：

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，**撕掉底部胶条，拔掉梳子，梳孔朝下轻甩胶板**，去除胶孔中可能有的残胶，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 1-4）。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 Thermo Fisher Mini Gel Tank 系列电泳槽。

2.2 准备 1×电泳缓冲液：

	1000 mL
10×Tris-醋酸-SDS 电泳缓冲液(变性电泳，溶液型)（TA050）	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：按照每 200 mL 1×电泳缓冲液加入 0.5 mL 400×抗氧化剂的比例配制，混合均匀后用于内槽缓冲液。

2.3 准备上样样品：

待测样品与 5×MonoColor 蛋白上样缓冲液（变性、还原）（PL080）按 4:1（v/v）混合，95℃加热 5 min。对于多次跨膜蛋白（multi-pass membrane protein），建议采用 37℃ 30 min 或 50℃ 10 min 处理，避免 95℃高温加热。高温处理可能导致疏水性膜蛋白聚集，从而在 WB 中出现高分子量聚集条带。

2.4 电泳：

在电泳槽内槽加入 1×内槽电泳缓冲液（含抗氧化剂），使用 1 mL 移液器冲洗加样孔 3 次；随后在外槽加入适量 1×外槽电泳缓冲液。加入样品后开始电泳。

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：恒压运行时无需调节电流，电流通常随电泳进行逐渐下降，可观察并记录电流变化。**建议按照推荐电压运行。提高电压会增加凝胶及电泳缓冲液的焦耳热，可能导致蛋白条带弯曲、扩散或分辨率下降。电泳过程中如缓冲液温度明显升高，可适当降低电压或采取冷却措施。**

3. 染色：

3.1 将电泳后的 PAGE 胶取下放入塑料容器中，加入适量染色液，以完全覆盖凝胶为宜。对于蛋

白含量较高的条带 ($\geq 1 \mu\text{g}/\text{条带}$)，染色 1–2 min 即可观察到明显条带。

3.2 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。

3.3 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。

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，需要选择 0.45 μm 孔径。PVDF 膜使用前注意需要用甲醇润湿活化。

4.2 准备 1×转膜缓冲液：

		1×即用型转膜缓冲液(1 升)
	10×湿转转膜缓冲液(适用 Tris 醋酸胶高分子量蛋白)	100 mL
50-500 kDa	超纯水	约 500 mL
	无水甲醇或乙醇（终浓度 10%（v/v））	100 mL
	超纯水	定容至 1 升

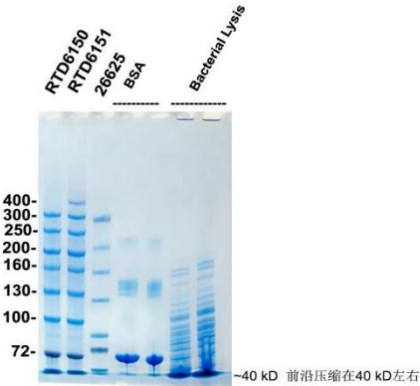
4.3 转膜条件：

以下条件仅供参考。不同目的蛋白的最佳转膜条件可能存在差异，建议根据蛋白分子量及实验结果进行优化。

膜孔径	蛋白大小	恒流	建议时间	降温措施
0.45 μm	50-500 kDa	400 mA	40-60 min	全程低温
注：参考电压约 80–90 V，实际电压随转膜体系、电泳槽及温度等因素变化。				

5. 实验示例：

5.1 3–8% Tris-醋酸预制胶考马斯亮蓝染色结果：

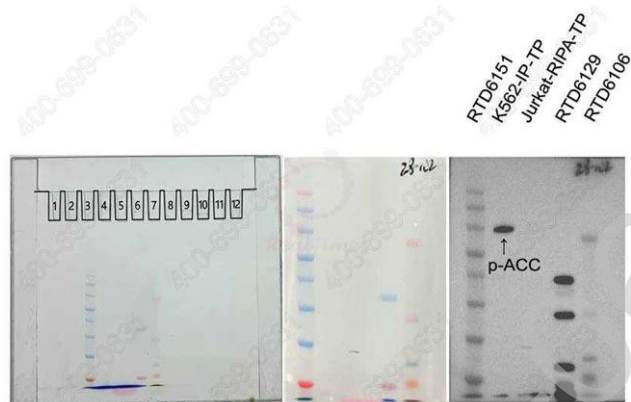


凝胶：3-8% Tris-醋酸预制胶（RTD6154-0308P）

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

染色：FastBlue 快速染色液（RTD6202），染色 30 min

5.2 3-8%Tris 醋酸胶 WB 检测结果:



样品 1: K562-IP-TP。K562 细胞使用 Western 及 IP 细胞裂解液 (WL1020) 提取总蛋白;

样品 2: Jurkat-RIPA-TP。Jurkat 细胞使用 RIPA 裂解液 (强) (RL1020) 提取总蛋白;

样品处理: 5×双色蛋白上样缓冲液 (变性, 还原) (PL090), 95 度 5 min, 样品 1 和 2 上样 20 μg;

Marker: 三色预染高分子量蛋白 Marker III(25-400 kDa) (RTD6151), ECL 发光 Marker II (22-154 kDa) (RTD6129), 彩虹预染宽分子量蛋白 Marker (10-260 kDa) (RTD6106), 上样各 5 μL;

电泳: 3-8% RealPAGE Tris-醋酸预制胶(RTD6154-0308), 1×Tris-醋酸-SDS 电泳缓冲液 (加抗氧化剂) (TA050), 恒压 150 V 51-44 mA 70 min(左图); 转膜: 1×湿转膜缓冲液 (RT5050) 加 10%乙醇; 0.45 μm PVDF 膜; 恒流 400 mA 转膜 40 min, 电压变化 84-88 V, 全程冰浴并搅拌降温(中图); 封闭: Western 封闭液 I (BSA) (WB1070) RT 60 min; 抗体: p-ACC 兔单抗 CST#3661S 1: 1000 4℃过夜孵育; 二抗-Jackson 羊抗兔 IgG-HRP 1:5000 RT 60 min; ECL 发光检测 (右图): K562 样品中检测到约 250 kDa 的 p-ACC 特异性条带; 本实验条件下 Jurkat 样品未检测到明显 p-ACC 条带。