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

RealPAGE 3-8% Tris-醋酸预制胶（塑料板）

Ver.760860-3.0

货号	名称	规格
RTD6154-0308P	RealPAGE 3-8% Tris-醋酸预制胶（塑料板）	10 板/盒

● 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。

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：

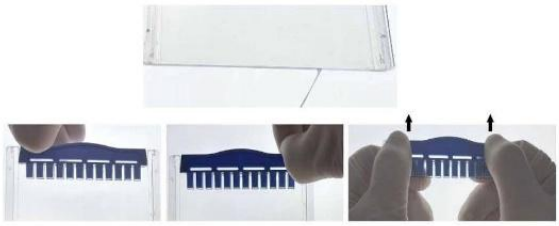
4-8 度贮存（**切勿冷冻**）；常温运输；有效期 1 个月。

● 使用说明：

1. 实验准备：400×抗氧化剂（TA1510）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：本制品仅供科研用。请勿用于人体及动物的医疗、临床诊断或作为食品、化妆品、家庭用品的添加剂等用途。

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（如右图）。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 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。

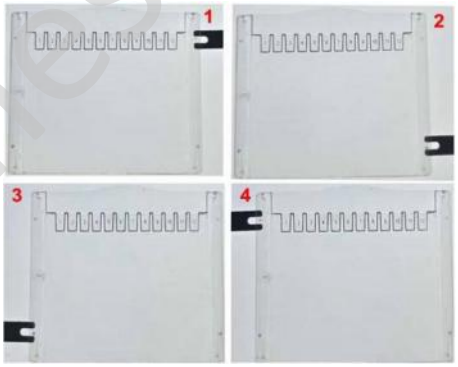
2.4 电泳：

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。**			

2.5 拆胶：

使用配套工具撬动胶板，小心剥下凝胶。



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（≥1 μg/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。

Real-Times 400-699-0631

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)（RT5050）	**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**

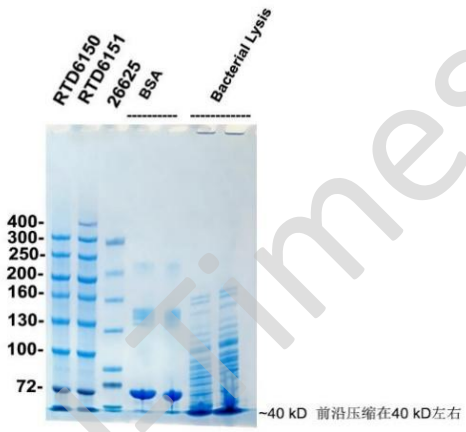
4.3 转膜条件：

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：



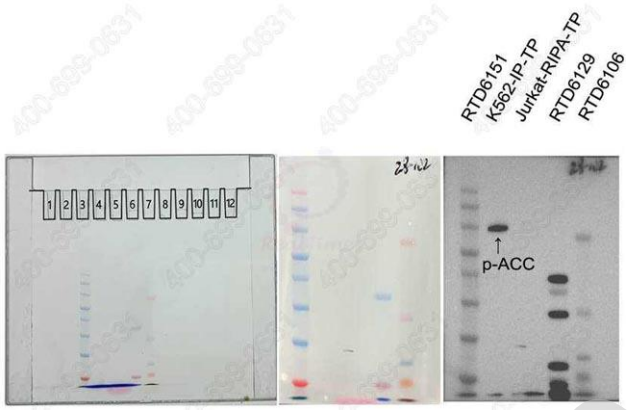
凝胶：3-8% Tris-醋酸预制胶（RTD6154-0308P）

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

Real-Times 400-699-0631

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(RTD6154-0308P), 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×湿转转膜缓冲液（RT5050）加 10%乙醇；0.45 μm PVDF 膜； 恒流 400 mA 转膜 40 min（中图），电压变化 84–88 V，全程冰浴并搅拌降温；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。

Real-Times 400-699-0631