

SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒使用说明书

产品货号: SK6010

储存条件: Acr-Bis 溶液 2-8°C 储存, 其它常温储存。有效期 2 年。

产品组成:

Components	SK6010-50	SK6010-250	保存条件
30%Acr-Bis (29:1)	100 ml	500 ml	2-8°C
分离胶缓冲液	100 ml	500 ml	RT
浓缩胶缓冲液	50 ml	250 ml	RT
APS (过硫酸铵)	5×0.1 g	5×0.5 g	RT
TEMED	1 ml	5 ml	RT/避光
说明书	1 份		

注意: 过硫酸铵 (APS) 为固体粉末, 使用前配制成 10% APS 溶液 (0.1 g APS 加 1ml 双蒸水; 0.5 g APS 加 5ml 双蒸水)。APS 溶液最好现配现用, 通常 4°C 可保存两周, -20°C 能保存半年。

产品简介:

本产品包括 SDS-PAGE 凝胶制备所需全部试剂, 只需自备蒸馏水, 即可制备各种浓度的变性及非变性 PAGE 凝胶, 方便、快捷、安全、实惠。本试剂盒在分离胶缓冲液和浓缩胶缓冲液中已加入 10% SDS, 使用时无需另外加入, 分离胶缓冲液、浓缩胶缓冲液放置 2-8°C 可能出现絮状, 为 SDS 析出, 常温下放置一会溶液恢复澄清, 可继续使用。因为制备凝胶浓度不同, 本品只给出大概制胶数量。

操作步骤:

根据目的蛋白分子量大小选择合适的 PAGE 分离胶配制浓度, 最佳胶浓度请参考附表 1。

一、灌制分离胶 (各试剂使用量请参考附表 3)

1. 参照凝胶模具说明书, 装配好凝胶模具。

注: 加入上层筛板有助于加样时保持填料与样品均匀接触, 是否加入上层筛板可根据实际情况选择。

2. 将不同体积的 30% Acr-Bis(29:1)、分离胶缓冲液和双蒸水在小烧杯或试管中混合。

3. 加入 10% APS 和 TEMED, 轻轻搅拌使其混匀, 避免产生气泡。

4. 在凝胶模具中灌入适量分离胶溶液 (对于 mini-gel, 凝胶液加至约距前玻璃板顶端 1.5 cm 或距梳齿约 0.5 cm 即可, 然后在分离胶溶液上轻轻覆盖一层 1-5 cm 的水层, 使凝胶表面保持平整。

5. 静置 30-60 分钟, 待分离胶和水层之间出现一个清晰的界面后, 表面凝胶已聚合。

二、灌制浓缩胶 (各试剂使用量请参考附表 2)

1. 去除覆盖在分离胶上的水层。

2. 将不同体积的 30% Acr-Bis (29:1)、浓缩胶缓冲液和双蒸水在一个小烧杯或试管中混合。

3. 加入 10% APS 和 TEMED, 轻轻搅拌使其混匀, 避免产生气泡。

4. 将浓缩胶溶液加至分离胶的上面, 直至凝胶溶液到达前玻璃板的顶端。

5. 将梳子插入凝胶内, 避免产生气泡。

6. 静置 10~20 分钟, 等待浓缩胶聚合。

- 待凝胶聚合后，小心地拔出梳子，以免破坏加样孔。
- 进行常规电泳操作。

注意事项：

- APS 溶液不稳定，每次取用后立即放回冰箱，以防失效；若发现凝胶聚合时间延长，应考虑更换 10% APS。
- PAGE 凝胶的凝聚速度与温度以及 APS、TEMED 的用量密切相关；可通过改变 APS 及 TEMED 的用量，控制 PAGE 凝胶的聚合速度，凝胶聚合过快不利于操作。
- 在凝胶配制过程中，尤其是液体混匀步骤，应尽量避免气泡的产生。
- 在分离胶上层加蒸馏水时要小心操作，加水时速度不能太快。
- 丙烯酰胺具有神经毒性，操作时请穿戴实验服和一次性手套。

附表 1. SDS-PAGE 分离胶的浓度与最佳分离范围：

SDS-PAGE 分离胶浓度	分离范围
6%	50-150 kD
8%	30-90 kD
10%	20-80 kD
12%	12-60 kD
15%	10-40 kD

附表2. 配制5%SDS-PAGE浓缩胶体积（组份体积单位ml）：

胶体积	双蒸水	30% Acr-Bis(29:1)	浓缩胶缓冲液（4×）	10%APS	TEMED
2 ml	1.14	0.34	0.5	0.02	0.002
4 ml	2.28	0.68	1	0.04	0.004

附表 3. 配制 SDS-PAGE 分离胶（组份体积单位 ml）：

胶浓度	胶体积	双蒸水	30% Acr-Bis(29:1)	分离胶缓冲液(4×)	10%APS	TEMED
6%	5 ml	2.75	1.0	1.25	0.05	0.004
	10 ml	5.5	2.0	2.5	0.1	0.008
	15 ml	8.25	3.0	3.75	0.15	0.012
	20 ml	11	4.0	5	0.2	0.016
8%	5 ml	2.42	1.33	1.25	0.05	0.003
	10 ml	4.8	2.7	2.5	0.1	0.006
	15 ml	7.25	4.0	3.75	0.15	0.009
	20 ml	9.7	5.3	5	0.2	0.012
10%	5 ml	2.08	1.67	1.25	0.05	0.002
	10 ml	4.17	3.33	2.5	0.1	0.004
	15 ml	6.25	5.0	3.75	0.15	0.006
	20 ml	8.3	6.7	5	0.2	0.008
12%	5 ml	1.75	2.0	1.25	0.05	0.002
	10 ml	3.5	4.0	2.5	0.1	0.004
	15 ml	5.25	6.0	3.75	0.15	0.006
	20 ml	7.0	8.0	5	0.2	0.008
15%	5 ml	1.25	2.5	1.25	0.05	0.002
	10 ml	2.5	5.0	2.5	0.1	0.004
	15 ml	3.75	7.5	3.75	0.15	0.006
	20 ml	5	10.0	5	0.2	0.008