

SDS-PAGE凝胶制备试剂盒

货号: FS13545

规格: 25T/50T

保存: 2-8°C, 避光, 有效期 1 年。

产品组成:

	25T	50T	保存条件
30%Acr/Bis(29:1)	100mL	100mL×2	4°C, 避光
1.5mol/L Tris(pH8.8)	100mL	100mL×2	常温
1.0mol/L Tris(pH6.8)	30mL	60mL	常温
PAGE胶凝固剂	1g	2g	干粉4°C; 溶液-20°C
10%SDS	5mL	10mL	常温
PAGE胶促凝剂	0.8mL	1.5mL	4°C, 避光

*使用前按每克PAGE胶凝固剂加蒸馏水10mL配置成10%溶液, 并分装成小体积后冻存于-20°C。

*检测 SDS 溶液是否澄清, 若出现絮状物或沉淀可放 37°C片刻至溶解, 不影响效果。

产品说明:

本产品包括 SDS-PAGE 凝胶制备所需的全套试剂, 客户只需自备制胶器具和蒸馏水, 即可配 PAGE 胶(即聚丙烯酰胺凝胶), 方便、快捷、实惠。本试剂盒不仅可用于配制 SDS-PAGE 凝胶, 也可用于配制非变性(native)PAGE 凝胶。本试剂盒约可配制 25/50 块常规大小的 PAGE 胶。

操作步骤(仅供参考):

根据目的蛋白分子量大小选择合适的 PAGE 分离胶浓度, 最佳凝胶浓度见附表 1。

一、灌制分离胶(各试剂使用量见附表 3)

1、参照凝胶模具说明书, 装配好凝胶模具。

注: 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)、1.5mol/L Tris(pH8.8)、10%SDS 和双蒸水在烧杯或试管中混合。

3、加入 10%PAGE 胶凝固剂和 PAGE 胶促凝剂, 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 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(各试剂使用量见附表 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)、1.0mol/L Tris(pH6.8)、10%SDS 和纯水在小烧杯或试管中混合。

3、加入 10%PAGE 胶凝固剂和 PAGE 胶促凝剂, 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。静置 10~20 分钟，等待浓缩胶聚合。
- 7、待凝胶聚合后，小心地拔出梳子，以免破坏加样孔。
- 8、进行常规电泳操作。

附表

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	最佳分离范围
6%胶	50-150 kD
8%胶	30-90 kD
10%胶	20-80 kD
12%胶	12-60 kD
15%胶	10-40 kD

附表 2. 配制 5%SDS-PAGE 浓缩胶

凝胶体 积	所需各组分体积（单位：ml）					
	纯水	30%Acr/Bis(29:1)	1.0mol/L Tris(pH6.8)	10%SDS	10%PAGE 胶凝固剂	PAGE 胶 促凝剂
5ml	3.42mL	0.83mL	0.625mL	50μL	75μL	7.5μL

附表 3. 配制 SDS-PAGE 分离胶

凝胶浓度	凝胶体积	所需各组分体积（单位：ml）					
		纯水	30%Acr/Bis (29:1)	1.5mol/L Tris(pH8.8)	10%SDS	10%PAGE 胶 凝固剂	PAGE 胶促凝 剂
6%	10ml	5.3 mL	2 mL	2.5mL	100μL	100μL	10μL
8%	10ml	4.6 mL	2.7 mL	2.5mL	100μL	100μL	10μL
10%	10ml	4.0 mL	3.3 mL	2.5mL	100μL	100μL	10μL
12%	10ml	3.3mL	4 mL	2.5mL	100μL	100μL	10μL
15%	10ml	2.3mL	5mL	2.5mL	100μL	100μL	10μL

注意事项：

- 1、10%PAGE 胶凝固剂配制后分装-20℃保存。10%PAGE 胶凝固剂溶液不稳定，应尽量减少室温存放时间，每次取用后立即放回冰箱，以防失效；10%PAGE 胶凝固剂溶液在 4℃有效期为一周。若发现凝胶聚合时间延长，应考虑更换使用-20℃保存的 PAGE 胶凝固剂溶液。
- 2、10%SDS 在低温情况下容易析出，配置之前请确保 10%SDS 溶液澄清透明。若有析出，可 37℃水浴溶解后使用。
- 3、PAGE 胶促凝剂易挥发，使用后请盖紧瓶盖。
- 4、PAGE 凝胶的凝聚速度与温度以及 PAGE 胶凝固剂、PAGE 胶促凝剂的用量密切相关；在其它条件不变的情况下，可通过改变 PAGE 胶凝固剂及 PAGE 胶促凝剂的用量，控制 PAGE 凝胶的聚合速度，

凝胶聚合过快不利于操作；附表中的 PAGE 胶凝固剂、PAGE 胶促凝剂的用量可供参考，应根据实际操作情况做适当的调整。

5、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。

6、在分离胶上层加纯水时要小心操作，加水时速度不能太快。

7、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。