

电泳试剂选择指南

Guide For Electrophoresis Reagents



核酸电泳试剂

>>凝胶材质

琼脂糖和聚丙烯酰胺是核酸电泳中最常用的两种凝胶基质。两种材料都能形成三维基质，用于核酸的分离。

凝胶材质的选择，主要取决于核酸样品的大小和期望达到的分辨率。琼脂糖凝胶可用于分离0.05-50kb的核酸分子。聚丙烯酰胺形成的孔径较小，可用于分离小于3kb的核酸分子。某些情况下，可采用聚丙烯酰胺凝胶以获得片段小于100bp的单碱基分辨率。

琼脂糖凝胶和聚丙烯酰胺凝胶之间的差异

来源	凝胶灌制方法	核酸回收	DNA分离范围	分辨力	
琼脂糖	来源于海藻的多糖聚合物	融化和凝固	融化和提取	50-50000bp	5-10核苷酸
聚丙烯酰胺	丙烯酰胺交联，甲叉双丙烯酰胺	开始化学反应	溶解或扩散，或电解	5-3000bp	单核苷酸

A)琼脂糖凝胶

琼脂糖溶液加热并冷却后，就会形成凝胶基质，用于核酸电泳。由于琼脂糖凝胶加热可逆，因此，通过溶解含有目的片段的凝胶，可提取电泳分离出的核酸。

* 确定琼脂糖比例

通过改变基质的百分比来调整孔径大小，从而有效分离不同大小的核酸。琼脂糖凝胶的含量与分离核酸大小成反比。

推荐百分比琼脂糖凝胶用于DNA片段分离

凝胶百分比	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0	1.2	1.5	2.0	3.0	4.0	5.0
高效分离的范围	2000-50000	2000-20000	800-12000	800-10000	600-10000	400-8000	300-7000	200-3000	100-2000	25-1000	10-500	10-300

凝胶比例计算为：凝胶%(w/v)=(琼脂糖g/缓冲液ml) x 100%

* 用于核酸电泳的琼脂糖选型：

生化级琼脂糖适用于普通核酸电泳

Wide range琼脂糖可用于分离碱基数量较低的DNA，约50-1000bp

低熔点琼脂糖适用于DNA提取，也是凝胶内酶反应的理想选择

低EEO琼脂糖，纯度更高，有助于和加快核酸条带电泳速度、减少条带扩散并提高电泳分辨率

高分辨率琼脂糖可用于分离碱基数量差异在2%左右的小DNA片段（20-800bp）

琼脂糖

产品号	名称	级别	Cas	规格
A104062	琼脂糖	for biochemistry	9012-36-6	5g,25g,100g,500g
A118882	琼脂糖	Wide range(multipurpose)	9012-36-6	5g,25g,100g
A118881	琼脂糖	High resolution, DNase, RNase, NICKase, none detected	9012-36-6	25g,100g
A118880	琼脂糖	low EEO	9012-36-6	5g,25g,100g,500g
A104063	低熔点琼脂糖	低熔点,适用于分离小的核酸片段	9012-36-6	5g,25g

B)聚丙烯酰胺凝胶

聚丙烯酰胺是由丙烯酰胺单体聚合而成的聚合物，通常与双丙烯酰胺或N,N'-亚甲基双丙烯酰胺结合使用。交联剂双丙烯酰胺含有两个单位通过亚甲基桥连的丙烯酰胺。聚合是被TEMED催化（N,N,N,N-四甲基乙二胺）的自由基反应-通常由过硫酸铵(APS)引发。在既定温度下，APS和/或TEMED的浓度决定了聚合速率。

* 聚丙烯酰胺组分选型

核酸分离，通常采用 3 - 30% (%T)的聚丙烯酰胺凝胶。

$$\%T(w/v)=[(丙烯酰胺+双丙烯酰胺)g/缓冲液ml] \times 100\%$$

$$\%C(w/w)=[双丙烯酰胺g/(丙烯酰胺+双丙烯酰胺)g] \times 100\%$$

聚丙烯酰胺常用组分及应用

丙烯酰胺: bis	%C	相对空隙大小	研究应用
19:1	0.05	小	DNA和变性凝胶
29:1	0.033	中	非变性凝胶ssDNA和RNA
37.5:1	0.027	大型	蛋白凝胶

* 确定聚丙烯酰胺比例

在凝胶中，丙烯酰胺和双丙烯酰胺(简称为“bis”)的总浓度(以%T表示)决定了孔隙大小。%T百分比越高，孔隙越小，可分辨的分子越小。

不同浓度丙烯酰胺和DNA的有效分离范围表

丙烯酰胺 (%)	3.5	5	8	12	15	20
有效分离范围 (bp)	100-2000	80-500	60-400	40-200	25-150	10-100

* 确定配方(以50ml体系为例:)

成分	丙烯酰胺: Bis	10*TBE	TEMED	10% APS	dd H2O
浓度	目标浓度	总体积的1/10	0.5µl/ml	5µl/ml	补足体积

丙烯酰胺: 双丙烯酰胺的组分-可预先制备成原液，方便使用。

丙烯酰胺: 双丙烯酰胺为神经毒素，实验时应使用防护设施，小心操作。

聚丙烯酰胺凝胶组分

产品号	名称	级别	Cas	规格
A108470	丙烯酰胺	电泳专用级	79-06-1	25g,100g,500g
M104026	N, N' -亚甲基双丙烯酰胺	电泳级, ≥99.0% (T)	110-26-9	25g,100g,500g
T105496	四甲基乙二胺(TEMED)	用于电泳,99%	110-18-9	25ml, 100ml
A112447	过硫酸铵APS	99.99% metals basis	7727-54-0	25g,100g,500g

>>电泳缓冲液

电泳缓冲液和凝胶制备缓冲液应尽量相同，确保有效的导电性。

电泳缓冲液的选择取决于样品大小、运行时间和后电泳过程，其中Tris-醋酸盐EDTA(TAE)和Tris-硼酸 EDTA(TBE)是最常用的两种缓冲液。

缓冲液选择指南

缓冲液	产品优势	缺点	核算分辨率	
			DNA	RNA
TAE	<ul style="list-style-type: none">·可更好的分离大片段·缓冲能力低；更适用于短时间运行·适用于下游的酶学应用	<ul style="list-style-type: none">·更容易导致过热	>1000bp	>1500
TBE	<ul style="list-style-type: none">·适用于短片段（线性dsDNA在TBE中迁移慢10%）·离子强度高，缓冲能力强；适用于长时间运行·不易导致过热	<ul style="list-style-type: none">·抑制酶，不适于下游酶学步骤（如克隆）	<5000bp	<1500碱基

检测dsDNA和RNA，一般在变性琼脂糖和聚丙烯酰胺凝胶的条件下进行。在缓冲液中加入变性剂会破坏核酸之间的氢键，减少二级结构的生成。常见的变性剂有：琼脂糖凝胶，磷酸钠缓冲液中的乙二醛和DMSO、NaOH- EDTA缓冲液、MOPS缓冲液中的甲醛或甲酰胺等；聚丙烯酰胺凝胶，TBE缓冲液中的尿素。

缓冲液

产品号	名称	倍数	规格
T197242	TAE缓冲液	10×	400ml,1L
T197243	TAE缓冲液	50×	400ml
T196389	TBE缓冲液	5×	400ml,1L

常见变性剂

产品号	名称	级别	Cas	规格
F103362	甲酰胺	分子生物学级,≥99.5%	75-12-7	100ml,500ml,2.5L
G103130	乙二醛溶液	用于分子生物学,40% in H ₂ O(8.8 M)	107-22-2	25ml,100ml
D103277	二甲基亚砜	分子生物学专用,≥99.9%	67-68-5	250ml
U111901	尿素	电泳级,≥99.5% (T)	57-13-6	500g,1Kg

>>染料

核酸样品染色的两种常用方法，包括：1)凝胶内染色；2)电泳后染色。

凝胶内与电泳后染色的利弊

方法	优势	注意事项
凝胶内染色	<ul style="list-style-type: none">·工作便利·工作流程更快·所需染色更少	<ul style="list-style-type: none">·在长时间运行之后，染色可能会失效·染色剂只能使用一次·可能改变样品迁移性
电泳后染色	<ul style="list-style-type: none">·提供更精确的分子大小分析·允许重复使用染色液或多个凝胶同时染色	<ul style="list-style-type: none">·工作流程耗时长·所需染色剂更多·可能会产生较多有害废物

A) 凝胶内染色

使用荧光核酸染色剂，是核酸内染色的常用方法。可在琼脂糖凝胶制备时加入推荐浓度核酸染色剂（常用溴化乙锭 $0.5 \mu\text{g/mL}$ ）。

荧光核酸染色剂

产品号	名称	级别	Cas	规格
E119045	溴化乙锭(EB)	分子生物学级，粉末， $\geq 95\%$ (HPLC)	1239-45-8	1g, 5g, 25g

B) 电泳后染色

电泳后染色常用银染方法对聚丙烯酰胺凝胶进行染色。

常规步骤如下：

- (1) 取下凝胶放入染色盒中用蒸馏水冲洗2次；
- (2) 固定：将胶放于固定液中振荡，固定10min；
- (3) 氧化：倒出固定液，水洗后用1%硝酸氧化3min，用蒸馏水漂洗2次，每次2s；
- (4) 染色：放入银染液中避光染色30min；
- (5) 洗涤：蒸馏水漂洗15s；
- (6) 显色：放入显色液中显色；
- (7) 停显：待有清晰条带出现（背景不太深时）倒出显色液，加入10%乙酸终止显色；
- (8) 水洗，成像。

固定液、染色液、显色液成分：

固定液：10%乙醇，0.5%乙酸

银染液：0.2%硝酸银，用之前加200 μl 甲醛（250ml银染液中）

显色液：1.5%氢氧化钠，0.5%甲醛

银染相关试剂

产品号	名称	级别	Cas	规格
E111991	乙醇	分子生物学专用, $\geq 99.8\%$	64-17-5	500ml
A298827	乙酸	GR	64-19-7	2.5L
S116268	硝酸银标准溶液	0.1000mol/L(0.1N)	7761-88-8	1L
F111941	甲醛溶液	用于分子生物学, $\geq 36.0\%$ in H_2O (T), 含10~15%甲醇稳定剂	50-00-0	100ml,500ml
S111501	氢氧化钠	ACS,97%	1310-73-2	500g,12*500g

>> 上样缓冲液

上样缓冲液通常包含密度成分、盐、金属螯合剂、染料。密度成分帮助样品沉入凝胶孔中，金属螯合剂，螯合样品中的核酸酶，防止核酸的降解，染料指示用于电泳的进展。

琼脂糖凝胶中，溴酚蓝和二甲苯青FF的表观分子大小

	凝胶%	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1	1.2	1.5	2	3	4	5
溴酚蓝	TBE	750bp	540bp	410bp	320bp	260bp	220bp	160bp	110bp	65bp	30bp	18bp	12bp
	TAE	1500bp	850bp	660bp	530bp	440bp	370bp	275bp	190bp	120bp	60bp	40bp	27bp
二甲苯青FF	TBE	13000bp	8820bp	6400bp	4830bp	3770bp	3030bp	2070bp	1300bp	710bp	300bp	170bp	105bp
	TAE	16700bp	11600bp	8500bp	6500bp	5140bp	4160bp	2890bp	1840bp	1040bp	460bp	260bp	165bp

聚丙烯酰胺凝胶中，溴酚蓝和二甲苯青FF的表观分子大小

丙烯酰胺: bis (19:1) 凝胶%	变性凝胶	4	5	6	8	10	15	20	30	非变性凝胶	3.5	5	8	12	15	20
		溴酚蓝	50碱基	35碱基	26碱基	19碱基	15碱基	10碱基	8碱基		6碱基	100bp	65bp	45bp	20bp	15bp
二甲苯青FF		230碱基	130碱基	105碱基	75碱基	55碱基	40碱基	28碱基	20碱基		460bp	260bp	160bp	70bp	60bp	45bp

10X Loading Buffer 常见组分举例:

10 mM Tris-HCl (pH 7.6)

60 mM EDTA

0.03% 溴酚蓝

60% 甘油

产品号	名称	级别	Cas	规格	备注
T105291	三(羟甲基)氨基甲烷盐酸盐(Tris HCl)	用于分子生物学和细胞培养, ≥ 99.0%(AT)	1185-53-1	100g, 500g	盐
X105504	二甲苯青FF	分子生物学级	2650-17-1	5g,25g	指示剂
B109645	溴酚蓝	Indicator	115-39-9	10g,25g,50g	指示剂
G118851	甘油	无菌,for molecular biology	56-81-5	100ml	密度成分
E118595	乙二胺四乙酸二钠,二水	分子生物学和电泳级, 99%	6381-92-6	100g, 500g	螯合剂

SDS-PAGE蛋白电泳试剂

十二烷基硫酸钠(SDS)-聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)是一种常用的蛋白电泳。经典SDS-PAGE蛋白电泳凝胶，由两种不同浓度的丙烯酰胺溶液形成的不连续凝胶（浓缩胶和分离胶）。

>>凝胶材质

聚丙烯酰胺是由丙烯酰胺单体聚合而成的聚合物，通常与双丙烯酰胺或N,N'-亚甲基双丙烯酰胺结合使用。交联剂双丙烯酰胺含有两个单位通过亚甲基桥连的丙烯酰胺。聚合是被TEMED催化（N,N,N,N-四甲基乙二胺）的自由基反应-通常由过硫酸铵(APS)引发。在既定温度下，APS和/或TEMED的浓度决定了聚合速率。

蛋白电泳，通常采用30%或30%+(%T)的聚丙烯酰胺凝胶。通过改变基质的百分比来调整孔径大小，从而有效分离不同大小的蛋白。聚丙烯酰胺凝胶的含量与蛋白大小成反比。

分离胶中丙烯酰胺比例和分离蛋白大小的关系

丙烯酰胺比例	8%	10%	12.50%	15%	20%
分离蛋白范围	25-200 KDa	15-100 KDa	10-70 KDa	6-60 KDa	4-40 KDa

>>变性剂

SDS是一种阴离子去污剂。SDS-PAGE蛋白电泳中,SDS与蛋白质紧密集合,将蛋白质的氢键、疏水键打开,引起蛋白质构想的改变,其所带的电荷与蛋白质有太大的差异,因此消除或掩盖了蛋白质本身的电荷。电泳时的蛋白的迁移率就不在受蛋白质原有的电荷和形状的影响,而只与蛋白质大小有关。

常用SDS-PAGE蛋白电泳分离胶和浓缩胶配置表

溶液成分 (mL)	5%浓缩胶	不同浓度的分离胶				
		6%	8%	10%	12%	15%
水	6.8	20	16.7	13.3	10	5
30%Acr-Bis(29:1)	1.7	10	13.3	16.7	20	25
1M Tris(pH=8.8)	-	19	19	19	19	19
1M Tris(pH=6.8)	1.25	-	-	-	-	-
10% SDS	0.1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
10% 过硫酸按	0.1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
TEMED	0.01	0.04	0.03	0.02	0.02	0.02
总体积 (mL)	10	50	50	50	50	50

凝胶配置试剂

产品号	名称	级别	Cas	规格
A108470	丙烯酰胺	电泳专用级	79-06-1	25g,100g,500g
M104026	N, N' -亚甲基双丙烯酰胺	电泳级, ≥99.0% (T)	110-26-9	25g,100g,500g
T105496	四甲基乙二胺(TEMED)	用于电泳,99%	110-18-9	25ml, 100ml
A112447	过硫酸铵APS	99.99% metals basis	7727-54-0	25g,100g,500g
S108346	十二烷基硫酸钠(SDS)	电泳专用, ≥98.5% (GC)	151-21-3	25g,100g,500g, 2.5Kg

>>电泳缓冲液

经典SDS-PAGE蛋白电泳缓冲体系 (TrisGlycine) 工作原理: 上层浓缩胶, 由较低浓度丙烯酰胺溶液形成 (一般丙烯酰胺浓度为4-6%)。浓缩胶体系中的氯离子 (Cl⁻) 作为先导离子, 以较快的速度向正极迁移。在其后面形成一个电导较低、电位梯度较陡的区域, 加快了蛋白质和甘氨酸离子 (Gly) 的迁移。由于浓缩胶中的pH较低 (一般pH=6.8), 甘氨酸的负离子效应不明显, 作为尾随离子, 迁移较慢。所以, 进入分离胶之前, 蛋白堆积在氯离子、甘氨酸离子之间, 有利于提高电泳的分辨率。

上层浓缩胶，由较低浓度丙烯酰胺溶液形成（一般丙烯酰胺浓度为4-6%）。浓缩胶体系中的氯离子（Cl⁻）作为先导离子，以较快的速度向正极迁移。在其后面形成一个电导较低、电位梯度较陡的区域，加快了蛋白质和甘氨酸离子（Gly）的迁移。由于浓缩胶中的pH较低（一般pH=6.8），甘氨酸的负离子效应不明显，作为尾随离子，迁移较慢。所以，进入分离胶之前，蛋白堆积在氯离子、甘氨酸离子之间，有利于提高电泳的分辨率。

电泳缓冲液配置试剂

组分	Tris base	甘氨酸	SDS	去离子水	(pH 8.3)
浓度	25 mM	192mM	0.10%	-	-

除了(Tris-甘氨酸)缓冲系统，聚丙烯酰胺蛋白电泳缓冲系统也衍生出了一系列进化缓冲系统。Tricine缓冲系统中，用Tricine替代了传统Tris-甘氨酸系统中的甘氨酸，使得低分子量蛋白（2-20 kDa）电泳具有更高的分辨率。Tris-醋酸盐凝胶可以用于大分子量蛋白（<500 kDa）的分离。

>>蛋白染料

考马斯亮蓝R250染料是SDS-PAGE中最常用的蛋白染色之一。蛋白质-染料复合物在549纳米处有最大的吸收。每个正电荷氨基酸约1.5-3个考马斯亮蓝R250分子将被结合。灵敏度在200-400ng左右。而考马斯亮蓝G250主要应用是Bradford法(测定蛋白质浓度)，但也可以对聚丙烯酰胺凝胶中的蛋白质进行染色。

蛋白染料

产品号	名称	级别	Cas	规格
C298550	考马斯亮蓝染色液	-	-	100ml
C298551	考马斯亮蓝快速染色液	0.1% (W/V)	-	100ml
B105005	考马斯亮蓝R250	电泳级, ≥90 % (HPLC)	6104-59-2	5g, 25g, 100g
B104241	考马斯亮蓝G250	70%, 用于电泳	6104-58-1	5g, 10g, 50g, 250g
C298552	考马斯亮蓝脱色液 (40%甲醇, 10%冰醋酸)	-	-	100ml

>>上样缓冲液

上样缓冲液通常包含密度成分、SDS、染料、缓冲体系。密度成分帮助样品沉入凝胶孔中，SDS是一种阴离子去污剂，染料则用于指示电泳的进展。对于还原蛋白电泳，还需在上样缓冲液中加入还原剂，降低二硫键的生成。

成分	Tris HCl	甘油	SDS	溴酚蓝	二硫苏糖醇 (DTT)	去离子水	(pH 6.8)
浓度	63 mM	10%	2%	0.00%	0.1 M (还原蛋白电泳)	—	-

上样缓冲液组分

产品号	名称	级别	Cas	规格
T105291	三(羟甲基)氨基甲烷盐酸盐(Tris HCl)	用于分子生物学和细胞培养, $\geq 99.0\%$ (AT)	1185-53-1	100g,500g
G11885	甘油	无菌,for molecular biology	56-81-5	100ml
S108346	十二烷基硫酸钠(SDS)	电泳专用, $\geq 98.5\%$ (GC)	151-21-3	25g,100g,500g, 2.5Kg
B109645	溴酚蓝	Indicator	115-39-9	10g,25g,50g
D104861	DL-二硫苏糖醇(DTT)	用于电泳, $\geq 99\%$	3483-12-3	1g,5g,25g



客户服务热线：400-620-6333

订购传真：021-5032 3701

技术支持Email：Tech@aladdin-e.com

售后服务Email：Service@aladdin-e.com

地址：上海市浦东新区新金桥路196号杉达大厦6层