

SDS-PAGE 凝胶试剂盒

项目号: S665689

储存条件: 2-8℃。

产品内容

组分	40-60 gels	200-300 gels
30%Acr-Bis(29:1)	100ml	2×250ml
SDS-PAGE Separating Gel Buffer (4×)	100ml	500ml
SDS-PAGE Stacking Gel Buffer (4×)	50ml	250ml
APS	0.5g	2.5g
TEMED	1ml	5ml

本产品所提供的 APS (过硫酸铵) 为固体粉末, 使用前加入纯水溶解即配制成 10%APS 溶液 (0.5 g APS 加 5 ml 纯水、2.5 g APS 加 25 ml 纯水), 将溶液分装后置于 -20℃ 保存, 通常半年内有效。溶液在使用中可放置 4℃ 保存两周。

产品简介

本产品包括 SDS-PAGE 凝胶制备所需全套试剂, 只需自备纯水, 即可制备高质量各种浓度的变性 PAGE 凝胶, 方便、快捷。本试剂盒在分离胶缓冲液和浓缩胶缓冲液中已加入 10%SDS, 使用时不用另外加入。

注意事项

1. 10%APS 配制后分装 -20 度保存。APS 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; 若发现凝胶聚合时间延长, 应考虑更换使用 -20 度保存的 10%APS。
2. PAGE 凝胶的凝聚速度与温度以及 APS、TEMED 的用量密切相关; 在其它条件不变的情况下, 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; 附表中的 APS 及 TEMED 量可供参考, 应根据实际操作情况做适当的调整。
3. 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。
4. 在分离胶上层加纯水时要小心操作, 加水时速度不能太快。
5. 丙烯酰胺具有神经毒性, 操作时请穿着实验服并佩戴一次性手套。
6. 本产品仅用于科研, 不能用于人体实验或人体治疗。

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。

I 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)、SDS-PAGE Separating Gel Buffer 和纯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 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。

II 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)、SDS-PAGE Stacking Gel Buffer 和纯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。
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)	SDS-PAGE Stacking Gel Buffer (4×)	10%APS	TEMED
2ml	1.14	0.34	0.5	0.02	0.002
4ml	2.28	0.68	1	0.04	0.004
6ml	3.42	1.02	1.5	0.06	0.006
8ml	4.56	1.36	2.0	0.08	0.008

附表 3. 配制 SDS-PAGE 分离胶

分离胶 浓度	凝胶 体积	所需各组分体积 (单位: ml)				
		纯水	30%Acr-Bis(29:1)	SDS-PAGE Separating Gel Buffer (4×)	10%APS	TEMED
6%	5ml	2.75	1.0	1.25	0.05	0.004
	10ml	5.5	2.0	2.5	0.1	0.008
	15ml	8.25	3.0	3.75	0.15	0.012
	20ml	11	4.0	5	0.2	0.016
8%	5ml	2.42	1.33	1.25	0.05	0.003
	10ml	4.8	2.7	2.5	0.1	0.006
	15ml	7.25	4.0	3.75	0.15	0.009
	20ml	9.7	5.3	5	0.2	0.012
10%	5ml	2.08	1.67	1.25	0.05	0.002
	10ml	4.17	3.33	2.5	0.1	0.004
	15ml	6.25	5.0	3.75	0.15	0.006
	20ml	8.3	6.7	5	0.2	0.008
12%	5ml	1.75	2.0	1.25	0.05	0.002
	10ml	3.5	4.0	2.5	0.1	0.004
	15ml	5.25	6.0	3.75	0.15	0.006
	20ml	7.0	8.0	5	0.2	0.008
15%	5ml	1.25	2.5	1.25	0.05	0.002
	10ml	2.5	5.0	2.5	0.1	0.004
	15ml	3.75	7.5	3.75	0.15	0.006
	20ml	5	10.0	5	0.2	0.008