

## SDS-PAGE 分离胶缓冲液 (4×)

项目号: S670007

储存条件: 2-8℃。

## 产品简介

本产品为配制 SDS-PAGE 分离胶缓冲液, 可用于配制各种浓度的变性及非变性 PAGE 凝胶, 方便、快捷。产品中已加入 10%SDS, 使用时不用另外加入。

## 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 2)

1. 参照凝胶模具说明书, 装配好凝胶模具。
2. 将不同体积的 30%Acr-Bis (29:1)、SDS-PAGE Separating Gel Buffer (4×) 分离胶缓冲液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 1.5cm 或距梳齿约 0.5cm 即可), 然后在分离胶溶液上轻轻覆盖一层 1cm 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 3)

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)、浓缩胶缓冲液和纯水在一个小烧杯或试管中混合。
3. 加入 10%过硫酸铵和 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 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)	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

附表 3. 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)	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
6 ml	3.42	1.02	1.5	0.06	0.006
8 ml	4.56	1.36	2.0	0.08	0.008