北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www.bjoka-vip.com
Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-ail:postmaster@oka-vip.com

SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒

产品简介:

聚丙烯酰胺凝胶电泳(polyacrylamide gel electrophoresis，PAGE)原理在于聚丙烯酰胺凝胶为网状结构，具有分子筛效应，它有两种形式：非变性聚丙烯酰胺凝胶及变性聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)，两种聚丙烯酰胺凝胶电泳在操作上基本上是相同的，只是非变性聚丙烯酰胺凝胶的配制和电泳缓冲液中不能含有变性剂如 SDS 等，在电泳的过程中蛋白质能够保持完整状态，并依据蛋白质的分子量大小、蛋白质的形状及其所附带的电荷量而逐渐呈梯度分开，主要用于分离某种特定的有生物学活性的成分；SDS-PAGE 使用变性剂 SDS 使蛋白溶解、变性并带上大量负电荷，每微克蛋白质结合 SDS 的量是一定的，这样就使每单位质量蛋白质有一定的电荷密度，因此可以根据多肽链的分子质量进行分离。

SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒不仅可用于配制 SDS-PAGE 凝胶，也可配制非变性(native) PAGE 凝胶，30T 一般可以配制 30～40 块，具体配制量应根据器具大小决定。

产品组成:

编号 / 名称	GCPE0018 30T	GCPE0018 150T	Storage
试剂(A): 30% Acr-Bis(29:1)	100ml	500ml	4℃ 避光
试剂(B): 1.5M Tris-HCl(pH8.8)	100ml	500ml	RT
试剂(C): 10% SDS	5ml	25ml	RT
试剂(D): Ammonium Persulfate	0.5g	2×1g	RT
试剂(E): TEMED	2ml	2×5ml	4℃ 避光玻璃瓶
试剂(F): 1M Tris-HCl(pH6.8)	15ml	75ml	RT
使用说明书	1 份		

操作步骤(仅供参考):

1、 配制 10%过硫酸铵：直接在 0.5g Ammonium Persulfate 中加入 5ml 蒸馏水(1g 每瓶加入 10ml 蒸馏水)，充分溶解，分装成小份储存于-20℃或 4℃。

2、 根据目的蛋白分子量大小选择合适的凝胶浓度，按照下表配制分离胶(下层胶):

不同浓度的 SDS-PAGE 分离胶的最佳分离范围

分离胶浓度	最佳分离范围	分离胶浓度	最佳分离范围
5%胶	60~200KD	10%胶	20~80kD
6%胶	50~150kD	12%胶	12~60kD
8%胶	30~90kD	15%胶	10~40kD

配制不同体积 5%SDS-PAGE 分离胶所需各成分的体积(ml)								
成分	**5**	**10**	**15**	**20**	**25**	**30**	**40**	**50**
蒸馏水	2.77	5.63	8.39	11.25	14.01	16.88	22.50	28.13
30%Acr-Bis(29:1)	0.83	1.67	2.50	3.33	4.167	5.00	6.67	8.33
1.5M Tris,pH8.8	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5	10	12.5
10%SDS	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
10%过硫酸铵	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
TEMED	0.004	0.008	0.012	0.016	0.02	0.024	0.032	0.04

配制不同体积 6%SDS-PAGE 分离胶所需各成分的体积(ml)								
成分	**5**	**10**	**15**	**20**	**25**	**30**	**40**	**50**
蒸馏水	2.6	5.3	7.9	10.6	13.2	15.9	21.2	26.5
30%Acr-Bis(29:1)	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	8	10.0
1.5M Tris,pH8.8	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5	10	12.5
10%SDS	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
10%过硫酸铵	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
TEMED	0.004	0.008	0.012	0.016	0.02	0.024	0.032	0.04

配制不同体积 8%SDS-PAGE 分离胶所需各成分的体积(ml)								
成分	**5**	**10**	**15**	**20**	**25**	**30**	**40**	**50**
蒸馏水	2.3	4.6	6.9	9.3	11.5	13.9	18.5	23.2
30%Acr-Bis(29:1)	1.3	2.7	4.0	5.3	6.7	8.0	10.7	13.3
1.5M Tris,pH8.8	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5	10	12.5
10%SDS	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
10%过硫酸铵	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
TEMED	0.003	0.006	0.009	0.012	0.015	0.018	0.024	0.03

配制不同体积 10%SDS-PAGE 分离胶所需各成分的体积(ml)								
成分	**5**	**10**	**15**	**20**	**25**	**30**	**40**	**50**
蒸馏水	1.9	4.0	5.9	7.9	9.9	11.9	15.9	19.8
30%Acr-Bis(29:1)	1.7	3.3	5.0	6.7	8.3	10	13.3	16.7
1.5M Tris,pH8.8	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5	10	12.5
10%SDS	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
10%过硫酸铵	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
TEMED	0.002	0.004	0.006	0.008	0.01	0.012	0.016	0.02

配制不同体积 12%SDS-PAGE 分离胶所需各成分的体积(ml)								
成分	**5**	**10**	**15**	**20**	**25**	**30**	**40**	**50**
蒸馏水	1.6	3.3	4.9	6.6	8.2	9.9	13.2	16.5
30%Acr-Bis(29:1)	2.0	4.0	6.0	8.0	10.0	12.0	16.0	20.0
1.5M Tris,pH8.8	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5	10	12.5
10%SDS	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
10%过硫酸铵	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
TEMED	0.002	0.004	0.006	0.008	0.01	0.012	0.016	0.02

配制不同体积 15%SDS-PAGE 分离胶所需各成分的体积(ml)								
成分	**5**	**10**	**15**	**20**	**25**	**30**	**40**	**50**
蒸馏水	1.1	2.3	3.4	4.6	5.7	6.9	9.2	11.5
30%Acr-Bis(29:1)	2.5	5	7.5	10	12.5	15.0	20.0	25.0
1.5M Tris,pH8.8	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5	10	12.5
10%SDS	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
10%过硫酸铵	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
TEMED	0.002	0.004	0.006	0.008	0.01	0.012	0.016	0.02

注：如果配制非变性胶，参考上述配方，不加 10%SDS 即可配制成非变性 PAGE 胶。

3、 按照如下表格配制 SDS-PAGE 的浓缩胶(也称堆积胶、积层胶或上层胶)

配制不同体积 5%SDS-PAGE 浓缩胶所需各成分的体积(ml)							
成分	**1**	**2**	**3**	**4**	**6**	**8**	**10**
蒸馏水	0.68	1.4	2.1	2.7	4.1	5.5	6.8
30%Acr-Bis(29:1)	0.17	0.33	0.5	0.67	1.0	1.3	1.7
1M Tris,pH6.8	0.13	0.25	0.38	0.5	0.75	1.0	1.25
10%SDS	0.01	0.02	0.03	0.04	0.06	0.08	0.1
10%过硫酸铵	0.01	0.02	0.03	0.04	0.06	0.08	0.1
TEMED	0.001	0.002	0.003	0.004	0.006	0.008	0.01

4、电泳：静置，待凝胶聚合后，小心地拔出梳子，避免破坏加样孔，加入 Tris-甘氨酸电泳缓冲液，将待测蛋白与蛋白上样缓冲液混合，煮沸 5～10min 后加入样品孔，电泳，丽春红验证蛋白转膜是否成功。可购买雷根相关产品如下: Tris-甘氨酸电泳缓冲液(5×)(货品编号：PE0092)；SDS-PAGE 蛋白加样缓冲液(5×)(货品编号：PE0025)；考马斯亮蓝快速染色液(货品编号：PT0013)；丽春红 S 染色液(1×) (货品编号：PE0082)；Western 后续封闭、一抗二抗孵育、曝光均有对应产品。

注意事项:

1、过硫酸铵配制成 10%溶液分装后-20℃保存，应尽量减少室温存放时间以防失效，取出的 APS 溶液可短期 4℃保存，有效避免失效的方法是分成小份，即一般用 1.5ml EP 管分装成 0.5～1ml 每支，-20℃保存，每支使用 2～3 次即弃用。

2、TEMED 极易挥发，使用后请盖紧瓶盖 4℃保存，另外凝胶凝聚的速度和温度及光照关系密切，可通过适当调节 TEMED 的用量，控制在不同的室内环境下凝胶凝聚的速度。

3、配制聚丙烯凝胶的过程中如果冬天室温较低情况下，上下层胶出现白色沉淀是正常现象，可以置于 37℃水浴锅溶解后使用；冬天气温较低，分离胶凝固较慢，可将胶板置于空调下加速凝固。

4、30%Acr-Bis(29:1)有神经毒性，请小心操作，长期使用置于 4℃有助于其性能的稳定。

5、在配胶过程中所使用的长短玻璃板一定要清洗干净，如有胶体附着可能会导致电泳过程中漏样的发生。

6、蛋白进行非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳要先分清是碱性蛋白还是酸性蛋白，分离碱性蛋白要利用低 pH 凝胶系统，分离酸性蛋白要利用高 pH 凝胶系统，酸性蛋白通常在非变性凝胶电泳中采用的是 pH 8.8 的缓冲系统，蛋白带负电荷，向阳极移动；而碱性蛋白通常在微酸性环境下进行，蛋白带正电荷，这时候需要将阴极和阳极倒置才可以电泳分离碱性蛋白。

7、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

8、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期: 12 个月有效；常温运输，按要求保存。

相关产品:

产品编号	产品名称
GCPE0025	SDS-PAGE 蛋白加样缓冲液(5×)
GCPE0092	Tris-甘氨酸电泳缓冲液(5×)
GCPE0157	TEMED
GCPI0011	苯甲基磺酰氟溶液(PMSF,100mmol/L)
GCPS0013	RIPA 裂解液(强)
GCPT0001	BCA 蛋白定量试剂盒
GCPT0027	蛋白快速银染试剂盒
GCPW0040	Western blot 一抗稀释液
GCPW0072	DAB 辣根过氧化物酶显色试剂盒