一步法凝胶制备试剂盒(12%)

产品简介:

聚丙烯酰胺凝胶电泳(Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis，SDS~PAGE)其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 SDS~聚丙烯酰胺凝胶(SDS~PAGE)；非变性聚丙烯酰胺凝胶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，主要用于分离蛋白质和寡核苷酸。

一步法凝胶制备试剂盒(12%)经改良优化，把所需的 Tris-HCl、丙烯酰胺、SDS 等预混于分离胶缓冲液(下层胶)和浓缩胶缓冲液(上层胶)中，可直接配制 12%的分离胶和 5%的浓缩胶溶液，使用前按比例加入过硫酸铵和 TEMED 灌入玻璃板，操作简单。利用本试剂盒配置的预制胶，可高效兼容传统的电泳液及转膜液，10T 一般可以配制 10 块，具体配制的量应根据器具大小决定，12%的分离胶最佳分离范围是 12~60kD。该试剂仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

编号 / 名称	GCPE0424 50T	Storage
试剂(A): 下层胶预混液(12%)	250ml	4℃ 避光
试剂(B): 上层胶预混液	120ml	4℃ 避光
试剂(C): APS	0.5g	RT 避光
试剂(D): TEMED	1ml	4℃ 避光
使用说明书	1 份	

自备材料:

1、垂直电泳装置

2、移液器

操作步骤(仅供参考):

1、配制 10%过硫酸铵：直接在 0.5g APS 中加入 5ml 蒸馏水，充分溶解，分装成小份储存于-20℃或 4℃。注意：一般用 1.5ml EP 管分装成 0.5~1ml 每支，每支使用 2~3 次即弃用；-20℃保存，通常半年内有效，4℃保存，1 周有效。

2、将玻璃板固定好，并确定不会漏液，按照下表配制 12%的分离胶(下层胶)：对于普通的

配胶器，一般按 10ml 体积配制即可，取适量的混匀分离胶缓冲液倒入玻璃板中，加入 1ml 左右的蒸馏水以压平液面。注意：过硫酸铵和 TEMED 严格按照推荐量加入，且应充分混匀。

成分	配制不同体积 SDS~PAGE 分离胶所需各成分的体积(ml)						
下层胶预混液	5	10	15	20	30	40	50
10%过硫酸铵	0.05	0.1	0.15	0.2	0.3	0.4	0.5
TEMED	0.002	0.004	0.006	0.008	0.012	0.016	0.02

3、按照下表配制 5%的浓缩胶(上层胶)：对于普通的配胶器，一般按 3ml 体积配制即可，倒出蒸馏水，取适量的混匀浓缩胶缓冲液倒入玻璃板中。注意：过硫酸铵和 TEMED 严格按照推荐量加入，且应充分混匀。

成分	配制不同体积 SDS~PAGE 浓缩胶所需各成分的体积(ml)					
上层胶预混液	2	3	4	6	8	10
10%过硫酸铵	0.02	0.03	0.04	0.06	0.08	0.1
TEMED	0.002	0.003	0.004	0.006	0.008	0.01

4、缓缓插入梳子，为确保分离胶与浓缩胶界面更加整齐，插入梳子后可轻轻抬起制胶架的一端然后轻轻放下，使缓冲液有个缓慢的移动，从而界面更加整齐。

5、室温放置 30min 直至胶凝固。

6、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(含 15~20%甲醇)；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；将电泳槽置于 4℃或冰水浴中电泳，进行后续的考马斯亮蓝染色或电转。

注意事项：

1、 下层胶预混液和上层胶预混液中含有 Acr~Bis，对人体有毒，操作时请特别小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。

2、 过硫酸铵配制成 10%溶液后应当-20℃保存，应尽量减少室温存放时间以防失效；有效避免失效的方法是分成小份，-20℃保存，用 2~3 次，剩余的弃用，亦可 4℃保存几天。

3、 TEMED 易挥发，使用后请盖紧瓶盖，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。

4、 冬天室温较低时，可以自行额外添加少量 TEMED 以促进凝胶凝固；室温在 20°C 以上时通常不需要再额外添加 TEMED；室温较低，可以置于 37℃放置，加速凝固。

5、 TEMED 易燃，有腐蚀性，操作时请小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或腐蚀其他物品。

6、 配好的凝胶如果当天不能使用，可在 4°C 保存 1~2 天。

7、该试剂盒仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。

8、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

9、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期：6 个月有效；常温运输，按要求保存。

附录：不同浓度的 SDS-PAGE 分离胶的最佳分离范围：

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

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×)
GCPS0013	RIPA 裂解液(强)
GCDH0006	苏木素伊红(HE)染色液(醇溶)
GCPW0035	Western 转移缓冲液(5×)
GCTC0699	植物总糖和还原糖检测试剂盒(DNS 比色法)