SDS-PAGE 凝胶快速配制试剂盒

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。非变性聚丙烯酰胺凝胶和变性 SDS-PAGE 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，一般蛋白进行非变性凝胶电泳要先分清是碱性还是酸性蛋白，分离碱性蛋白时候，要利用低 pH 凝胶系统，分离酸性蛋白时候，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 pH 是 8.8 的缓冲系统，蛋白会带负电荷，蛋白会向阳极移动；而碱性蛋白通常电泳是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。

SDS-PAGE 凝胶快速配制试剂盒把所需的缓冲液、SDS 等预混于下层胶缓冲液(4×)(用于配制分离胶)和上层胶缓冲液(4×)(用于配制浓缩胶)，分别含有 Tris-HCl(pH8.8)、SDS 和 Tris-HCl(pH6.8)、SDS，30T 一般可以配制 30～40 块，具体配制的量应根据器具大小决定。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：

名称 \ 编号	GCPE0017 30T	GCPE0017 150T	Storage
试剂(A): 30% Acr-Bis(29:1)	100ml	500ml	4℃ 避光
试剂(B): 下层胶缓冲液(4×)	100ml	500ml	RT
试剂(C): 上层胶缓冲液(4×)	30ml	150ml	RT
试剂(D): Ammonium Persulfate	0.5g	2×1g	RT
试剂(E): TEMED	2×1ml	2×5ml	4℃ 避光
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 0.5gAmmonium 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℃。**注意：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；短期使用时可保存于**

4℃，1 周有效。

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：

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

成分	配制不同体积 SDS-PAGE 分离胶所需各成分的体积(ml)							
6%胶	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
下层胶缓冲液(4 ×)	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5	10	12.5
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

成分	配制不同体积 SDS-PAGE 分离胶所需各成分的体积(ml)							
8%胶	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
下层胶缓冲液(4 ×)	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5	10	12.5
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

成分	配制不同体积 SDS-PAGE 分离胶所需各成分的体积(ml)							
10%胶	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
下层胶缓冲液(4 ×)	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5	10	12.5
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

成分	配制不同体积 SDS-PAGE 分离胶所需各成分的体积(ml)							
12%胶	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
下层胶缓冲液(4 ×)	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5	10	12.5
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

成分	配制不同体积 SDS-PAGE 分离胶所需各成分的体积(ml)							
15%胶	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
下层胶缓冲液(4 ×)	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5	10	12.5
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

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)

成分	配制不同体积 SDS-PAGE 浓缩胶所需各成分的体积(ml)					
5%胶	2	3	4	6	8	10
蒸馏水	1.17	1.75	2.33	3.5	4.7	5.8
30%Acr-Bis(29:1)	0.33	0.5	0.67	1.0	1.3	1.7
上层胶缓冲液(4 ×)	0.5	0.75	1.0	1.5	2.0	2.5
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、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 后加入样品孔进行电泳，其中 Tris-甘氨酸电泳缓冲液可自行配制或采购Tris-甘氨酸电泳缓冲液(5 ×)；蛋白上样缓可自行配制或采购SDS-PAGE 蛋白加样缓冲液(5 ×)；同时也可以使用考马斯亮蓝染色液可自行配制或采购考马斯亮蓝快速染 色液以及丽春红验证蛋白转膜是否成功；
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，置于-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。

2、 TEMED 易挥发， 使用后请盖紧瓶盖， 凝胶过程中起到促凝剂的作用。

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)有轻微神经毒性， 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晰干净， 如有胶体附着可能会导致电泳过程中漏样的发生。

有效期： 12 个月有效。