



# 新快速 SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒

## SDS-PAGE Gel Parparation Kit

目录号: ZD304A 版本 2016-04-30

### 试剂盒内容:

试剂盒组成	ZD304A-1 (20次)	ZD304A-2 (50次)
30% 丙烯酰胺	100ml	250ml
4×分离胶 mix	50ml	125ml
8×浓缩胶 mix	25ml	50ml
10%过硫酸铵	10ml	10ml
说明书	一份	一份

本试剂盒所设定的一次反应的标准量为: 分离胶 5ml, 浓缩胶为 2 ml。

### 储存条件:

4×分离胶 mix、8×浓缩胶 mix 室温保存或者 4℃ 保存。

30% 丙烯酰胺 4℃ 保存; 室温运输。

**10%过硫酸铵:** 加 10ml 双蒸水配制为 10% 溶液。务必分装成 0.5ml 或一天内使用量的小管 -20℃ 保存, 短期可暂时放 4℃; 建议一天内使用一管, 第二天则丢弃; 通常冻存状态下一年内有效。过硫酸铵粉末可以室温长期保持, 潮解会完全失活, 务必密封保存。

### 产品简介

本公司生产的新 SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒 (SDS-PAGE Gel Parparation Kit) 提供了配制 SDS-PAGE 凝胶所需的各种试剂, 用户只需自备制胶器具和蒸馏水, 即可配制 PAGE 胶了。

### 产品特点:

**适用广泛:** 调节 30% 丙烯酰胺的比例即可制备各种浓度的胶;

**简单易用:** 产品组分精简, 仅需要加入 4 个组分混合即可;

**安全绿色:** 无令人头疼的 TEMED 气味。

### 注意事项

10% 过硫酸铵的水溶液不稳定, 每次取用后应立即放回冰箱, 尽量减少室温存放时间, 以防失效。如发现凝胶聚合不好, 应考虑丢弃使用过的 10% 过硫酸铵, 更换新配制的 10% 过硫酸铵。

另外 **PAGE 凝聚的速度和温度及催化剂的用量关系密切**, 在其它条件不变的情况下, 可通过改变 10% 过硫酸铵的用量, 控制 PAGE 凝胶的聚合速度, 凝胶聚合过快不利于操作。操作中, 特别是液体的混匀应尽量避免气泡的产生。

未聚合的丙烯酰胺有毒, 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 操作步骤:

**注意: 第一次使用时, 请按说明书“储存条件”中的说明将过硫酸铵固体用双蒸水配制成 10%水溶液, 并分装保存。**

- 1) 按胶板说明准备好灌胶的玻璃板。
- 2) 根据实验所需要的分离胶的量, 参照附录 配制 SDS-聚丙烯酰胺电泳分离胶。加入相应的 10%过硫酸铵(AP)后, 混匀, 立即灌胶; 注意灌胶高度, 通常留出 1.5cm 左右高度给浓缩胶。  
灌胶的方法较多, 其一是把胶板靠在试管架上使之与桌面夹角大约为  $10^\circ$ 。这可以减少漏胶和变形的机会。为了避免产生气泡, 灌胶时应小心缓慢。如有气泡产生, 用橡皮锤或铅笔橡皮端从下至上轻敲胶板将气泡赶出。
- 3) 放平胶板, 用 Tip 将 75%乙醇轻缓地加入到上下两块玻板之间, 用以封闭空气, 促使分离胶凝固。  
加入 75%乙醇的时候, 动作一定要轻柔, 将 TIP 放在玻板的正当中, 再往两块玻板间灌胶。这样可以保持分离胶与 75%乙醇的界面平整。
- 4) 倒掉 75%乙醇, 并用去离子水洗净分离胶表面的 75%乙醇。随后用滤纸尽可能吸净去离子水。参照附录 配制 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳的浓缩胶。加入相应的 10%过硫酸铵(AP)后, 混匀, 立即灌胶。
- 5) 立即插入大小合适的梳子, 此时不要让梳子下面产生气泡, 夹紧梳子和胶板, 再把剩下的胶液加到梳子两侧。凝胶时间约为 30min。  
**注意: 经验表明, 2 小时还未凝胶, 90%的可能为 10%过硫酸铵分解变质。可以先配制 1ml 10%的胶检测; 合格的试剂, 应该在 2-30 分钟内凝胶。**
- 6) 小心移去梳子, 用水清洗加样孔, 把胶固定于电泳槽上, 加入  $1 \times$  Tris-甘氨酸缓冲液。将蛋白样品和蛋白加样缓冲液混匀。每个加样孔中加入 5-10ul 该混合液。电泳时电压梯度 1v/cm 到 8v/cm 之间。  
→ 用银染试剂盒进行染色, 或者将胶放在考马斯亮蓝中染色 30min。

## 附录:

1. 根据目的蛋白的分子量大小选择合适的凝胶浓度, 再按照下面的表格配制 SDS-PAGE 的分离胶(即下层胶)。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	57-212kD
8%胶	36-94kD
10%胶	20-80kD
12%胶	12-60kD
15%胶	10-43kD

配制 6%的 PAGE 分离胶

成分	所需各成分的体积(毫升)					
凝胶体积	5	10	15	20	25	30
蒸馏水	2.7	5.5	8.2	11.0	13.7	16.5
30%丙烯酰胺	1.0	2.0	3.0	4.0	5	6.0
4×分离胶 mix	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5
10%过硫酸铵	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1	0.12

配制 8% 的 PAGE 分离胶

成分	所需各成分的体积(毫升)					
凝胶体积	5	10	15	20	25	30
蒸馏水	2.4	4.8	7.2	9.8	12	14.5
30% 丙烯酰胺液	1.3	2.7	4.0	5.3	6.7	8.0
4×分离胶 mix	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5
10% 过硫酸铵	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1	0.12

配制 10% 的 PAGE 分离胶

成分	所需各成分的体积(毫升)					
凝胶体积	5	10	15	20	25	30
蒸馏水	2	4.2	6.2	8.3	10.4	12.5
30% 丙烯酰胺	1.7	3.3	5.0	6.7	8.3	10.0
4×分离胶 mix	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5
10% 过硫酸铵	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1	0.12

制 12% 的 PAGE 分离胶

成分	所需各成分的体积(毫升)					
凝胶体积	5	10	15	20	25	30
蒸馏水	1.7	3.5	5.2	7.0	8.7	10.5
30% 丙烯酰胺	2.0	4.0	6.0	8.0	10.0	12.0
4×分离胶 mix	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5
10% 过硫酸铵	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1	0.12

配制 15% 的 PAGE 分离胶

成分	所需各成分的体积(毫升)					
凝胶体积	5	10	15	20	25	30
蒸馏水	1.2	2.5	3.7	5.0	6.2	7.5
30% 丙烯酰胺	2.5	5.0	7.5	10.0	12.5	15.0
4×分离胶 mix	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5
10% 过硫酸铵	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1	0.12

2. 按照如下表格配制 SDS-PAGE 的浓缩胶(也称上层胶、积层胶或堆积胶)

配制不同体积的浓缩胶

成分	所需各成分的体积(毫升)					
凝胶体积	2	3	4	5	6	8
蒸馏水	1.42	2.12	2.83	3.54	4.25	5.7
30% 丙烯酰胺	0.33	0.5	0.67	0.83	1.0	1.3
8×浓缩胶 mix	0.25	0.38	0.5	0.63	0.75	1.0
10% 过硫酸铵	0.008	0.012	0.016	0.020	0.024	0.032