



Order:010-62617225 62979301

Email:zomanbio@126.com

Http://www.zomanbio.com

版本号:2021-03

快速SDS-PAGE凝胶制备试剂盒

SDS-PAGE Gel Parparation Kit

(目录号: ZD304)

实验室使用, 仅用于科研

北京庄盟国际生物基因科技有限公司
Beijing Zoman Biotechnology Co.,Ltd.

■ 试剂盒内容：

试剂盒组成	ZD304-1 50次	ZD304-2 100次
30%制胶液	250ml	2×250ml
1.5mol/L Tris(pH8.8)	100ml	200ml
1.0mol/L Tris(pH6.8)	50ml	100ml
10%过硫酸铵	10ml	2×10ml
10% SDS	5ml	10ml
PAGE胶促凝剂	1ml	2ml
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10ml, 浓缩胶为4 ml。

■ 储存条件：

1.5mol/L Tris(pH8.8)、1.0mol/L Tris(pH6.8)、10% SDS和PAGE胶促凝剂(避光) 室温保存。30%制胶液4℃保存。

胶促凝剂为易挥发试剂，为减少挥发，建议4℃保存。

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。SDS-PAGE凝胶配制试剂盒不仅可用于配制SDS-PAGE凝胶，也可用于配制非变性(native)PAGE凝胶。

本试剂盒可配制不同常规、不同聚合度的PAGE胶(即聚丙烯酰胺凝胶) 约40-60块。

■ 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 胶促凝剂 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。

未聚合的制胶液有毒,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) 2) 根据实验所需要的分离胶的量,参照附录 配制电泳分离胶。加入相应的10%过硫酸铵(AP)和PAGE胶促凝剂后,混匀,立即灌胶。

→ 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° 。这样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 配制凝胶电泳的浓缩胶。加入相应的10%过硫酸铵(AP)和PAGE胶促凝剂后,混匀,立即灌胶。。

5) 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1h。

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(除PAGE胶促凝剂加1ul外,其他按配置表加入即可。);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

6) 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8c/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	2.6	5.3	7.9	10.6	13.2	15.9
30%制胶液	1.0	2.0	3.0	4.0	5	6.0
1.5mol/L Tris(pH8.8)	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5
10%SDS	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3
10%过硫酸铵	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3
PAGE胶促凝剂	0.004	0.008	0.012	0.016	0.02	0.024

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	2.3	4.6	6.9	9.3	11.5	13.9
30%制胶液	1.3	2.7	4.0	5.3	6.7	8.0
1.5mol/L Tris(pH8.8)	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5
10%SDS	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3
10%过硫酸铵	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3
PAGE胶促凝剂	0.003	0.006	0.009	0.012	0.015	0.018

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	1.9	4.0	5.9	7.9	9.9	11.9
30%制胶液	1.7	3.3	5.0	6.7	8.3	10.0
1.5mol/L Tris(pH8.8)	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5
10%SDS	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3
10%过硫酸铵	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3
PAGE胶促凝剂	0.002	0.004	0.006	0.008	0.01	0.012

配制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	1.6	3.3	4.9	6.6	8.2	9.9
30%制胶液	2.0	4.0	6.0	8.0	10.0	12.0
1.5mol/L Tris(pH8.8)	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5
10%SDS	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3
10%过硫酸铵	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3
PAGE胶促凝剂	0.002	0.004	0.006	0.008	0.01	0.012

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	1.1	2.3	3.4	4.6	5.7	6.9
30%制胶液	2.5	5.0	7.5	10.0	12.5	15.0
1.5mol/L Tris(pH8.8)	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5
10%SDS	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3
10%过硫酸铵	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3
PAGE胶促凝剂	0.002	0.004	0.006	0.008	0.001	0.012

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	1.4	2.1	2.7	3.4	4.1	5.5
30%制胶液	0.33	0.5	0.67	0.83	1.0	1.3
1.0mol/L Tris(pH6.8)	0.25	0.38	0.5	0.63	0.75	1.0
10%SDS	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.08
10%过硫酸铵	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.08
PAGE胶促凝剂	0.002	0.003	0.004	0.005	0.006	0.008