



SDS-PAGE Gel Rapid Preparation Kit

SDS-PAGE 凝胶快速制备试剂盒

版本号: V230501

货号: E158-00
保存: 4°C
运输: 低温

货号	规格
E158-00	50 rxn

【产品概述】

SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 是目前电泳法变性分离蛋白质的主要方法。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 ddH₂O, 即可以根据自己的实验需求, 配制不同浓度的 SDS-PAGE 胶 (即 SDS 聚丙烯酰胺凝胶)。其中上层浓缩胶带有黄色, 点样孔清晰易辨, 便于上样。极大程度上简化了凝胶制备的操作流程, 降低了实验人员接触剧毒试剂的机率, 具有快速、方便、安全、稳定等特点。

本试剂盒约可配制约 40-60 块 (mini 型 1 mm) 大小的 SDS-PAGE 凝胶。具体可以配制的凝胶数量和凝胶浓度、凝胶的厚薄、大小以及操作手法有关。

【产品组分】

组分货号	组分	E158-00	备注
ZE158-00-101	30% Acr-Bis (29:1)	125 ml	4°C 避光
ZE158-00-102	Separating Gel Buffer (4×)	100 ml	
ZE158-00-103	Stacking Gel Buffer-Yellow (4×)	50 ml	
ZE158-103	促凝成分	0.4 g	配制成 10% 溶液后, 于 -20°C 保存
ZE158-104	TEMED	500 μl	4°C 避光

【保存条件】

本试剂盒于 4°C 保存, 有效期 12 个月。30% Acr-Bis (29:1) 和 TEMED 需 4°C 避光保存。促凝成分更宜室温保存, 4°C 保存时需拧紧瓶盖注意防潮, 受潮后会很快失效。促凝成分用水配制成 10% 溶液后, 分装成小管 -20°C 保存, 通常半年内有效。

【使用方法】

- 根据目的蛋白的分子量大小选择合适的凝胶浓度, 不同浓度的 SDS-PAGE 分离胶的最佳分离范围如下表:

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

- 称取适量促凝成分, 用双蒸水或其它高纯度的水配制促凝成分溶液。例如称取 0.1 g 促凝成分, 用高纯度水溶解并定容到 1 ml 即为 10% 促凝成分溶液。
- SDS-PAGE 下层分离胶制备: 预混各组分溶液。下表列出了配制不同浓度的 SDS-PAGE 分离胶 (1 mm) 的各成分所需的体积 (如若需要配制多块分离胶, 根据下表用量成比例添加即可)。根据表中提供的体积, 添加各成分至小三角瓶或小烧杯中, 适当混匀后倒入制胶模具中, 用异丙醇、0.1% SDS 或蒸馏水封住液面, 室温静置约 30-60 min, 待分离胶和异丙醇、0.1% SDS 或蒸馏水层之间出现一个清晰的界面后, 表明凝胶已聚合。

注: 具体的凝固时间和温度及光照有关, 说明书中 TEMED 的正常推荐用量是室温为 25°C 时的推荐用量。为达到与 25°C 时相近的凝固时间, 当室温低于 25°C 时, 可以适当加大 TEMED 的用量, 例如低于 20°C 时建议用量是正常推荐用量的 1.5 倍。



成分	配制不同浓度的 SDS-PAGE 下层分离胶 (1 mm) 所需各成分的体积 (单位: ml)									
	6%		8%		10%		12%		15%	
	1 块	2 块	1 块	2 块	1 块	2 块	1 块	2 块	1 块	2 块
ddH ₂ O	2.75	5.5	2.42	4.84	2.08	4.16	1.75	3.5	1.25	2.5
30% Acr-Bis (29:1)	1.0	2.0	1.33	2.66	1.67	3.34	2.0	4.0	2.5	5.0
Separating Gel Buffer (4×)	1.25	2.5	1.25	2.5	1.25	2.5	1.25	2.5	1.25	2.5
10% 促凝成分	0.05	0.1	0.05	0.1	0.05	0.1	0.05	0.1	0.05	0.1
TEMED	0.004	0.008	0.003	0.006	0.002	0.004	0.002	0.004	0.002	0.004
总体积	5	10	5	10	5	10	5	10	5	10

4. 5% SDS-PAGE 上层浓缩胶制备: 预混各组分溶液。下表列出了配制不同数量的 5% SDS-PAGE 浓缩胶的各成分所需的体积, 根据表中提供的体积, 添加各成分至小三角瓶或小烧杯中, 混合均匀。去除下层胶上面覆盖的液体, 尽量去干净, 然后倒入混合液, 插入梳子, 室温静置约 10-30 min 待其凝固。上层胶凝固后, 则表明制胶步骤结束, 可以准备进行后续的电泳了。

成分	配制 5% SDS-PAGE 上层浓缩胶 (1 mm) 所需各成分的体积 (体积: ml)	
	1 块	2 块
ddH ₂ O	1.14	2.28
30% Acr-Bis (29:1)	0.34	0.68
Stacking Gel Buffer-Yellow (4×)	0.5	1.0
10% 促凝成分溶液	0.02	0.04
TEMED	0.002	0.004
总体积	2	4

5. 配制好的凝胶如果当天不能使用, 可以在 4℃ 保存 1-2 天后使用。

【注意事项】

- 制胶过程中必须佩戴手套, 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。
- 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, 可通过适当调节促凝成分和 TEMED 的用量, 控制在不同的室内环境下凝胶凝聚的速度。
- 促凝成分用水配制成 10% 水溶液后, 应当 -20℃ 保存。同时应尽量减少室温存放时间, 以防失效。推荐促凝成分每次均少量配制, 并尽量使用较新鲜配制的 10% 促凝成分溶液。
- 促凝成分溶液于 4℃ 下易失效, 建议于 -20℃ 保存。如发现凝胶时间超过 40 min, 则很有可能是因其失效引起。可使用 10% 过硫酸铵替代。
- 凝胶速度受诸多因素影响, 主要是促凝成分含量和温度。高温有利于凝聚, 所以转移到温度较高得温箱中可以加快凝胶速度。推荐凝胶速度控制在 15 min 以上, 并在观察到固液分界线后再等 5 min 进行下一步操作, 以确保凝胶充分凝聚。经验表明, 30-40 min 凝聚而成的凝胶分离效果较好。
- 试剂混合过程中动作应尽量快, 避免过多空气进入, 阻碍凝聚。混合后使用真空抽气可提高凝胶分辨率。
- 上层浓缩胶长度要适中, 梳子孔底部距离下层胶以 0.5 cm 左右为宜, 请根据每种大小规格凝胶的实际需要调整用量, 在灌注下层分离胶时给上层浓缩胶留出足够的空间, 否则上层胶过短影响凝聚效果。
- 蛋白样品本身的盐浓度会影响条带形状和分辨率, 必要时应进行脱盐处理。
- 电泳缓冲液应采用高纯度的原料和去离子水配制, 并避免污染。推荐使用 GenStar 的 10× Tris-甘氨酸电泳缓冲液 (Cat#E152)。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下, 本公司对此产品所承担的责任, 仅限于此产品的价值本身。