



SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒

产品信息：

组成	保存	PA106-01	PA106-02
		40-60 块胶	200-300 块胶
30% Acr-Bis(29:1)	室温	100ml	500ml
分离胶缓冲液	室温	100ml	500ml
浓缩胶缓冲液	室温	50ml	250ml
APS（过硫酸铵）	室温	0.5g	0.5g×5
TEMED	室温避光	1ml	1ml×5

重要提示：

本产品所提供的 APS（过硫酸铵）为固体粉末，使用前加入双蒸水溶解即配制 10%APS 溶液（0.5g APS 加 5ml 双蒸水），将溶液分装后置于-20℃保存，通常半年内有效。溶液在使用中可以放置 4℃保存两周。（常温运输，如长期保存建议放置于 2-8℃）

产品介绍：

本产品包括 SDS-PAGE 凝胶制备所需全套试剂，只需自备蒸馏水，即可制备高质量各种浓度的变性 PAGE 凝胶，方便、快捷。本试剂盒在分离胶缓冲液和浓缩胶缓冲液中已加入 10%SDS，使用时不用另外加入。

注意事项：

1. 10%APS 配制后分装-20℃保存。APS 溶液不稳定，应尽量减少室温存放时间，每次取用后立即放回冰箱，以防失效；若发现凝胶聚合时间延长，应考虑更换使用-20℃保存的 10%APS。
2. PAGE 凝胶的凝聚速度与温度以及 APS、TEMED 的用量密切相关；在其它条件不变的情况下，可通过改变 APS 及 TEMED 的用量，控制 PAGE 凝胶的聚合速度，凝胶聚合过快不利于操作；附表中的 APS 及 TEMED 量可供参考，应根据实际操作情况做适当的调整。
3. 在凝胶配制过程中，尤其是液体混匀步骤，应尽量避免气泡的产生。
4. 在分离胶上层加蒸馏水时要小心操作，加水时速度不能太快。
5. 丙烯酰胺具有神经毒性，操作时请穿着实验服并佩戴一次性手套。
6. 本产品仅用于科研，不能用于人体试验或人体治疗。

操作步骤：

根据目的蛋白分子量大小选择合适的 PAGE 分离胶配制浓度，最佳胶浓度请参考

附表 1.

一、制备分离胶（各试剂使用量请参考附表 3）

1.参照凝胶模具说明书，装配好凝胶模具。

注：加入上层筛板有助于加样时保持填料与样品均匀接触，是否加入上层筛板可根据实际情况选择。

2.将不同体积的 30%Acr-Bis(29:1)、分离胶缓冲液和双蒸水在小烧杯或试管中混合。

3.加入 10%APS 和 TEMED，轻轻搅拌使其混匀，避免产生气泡。

4.在凝胶模具中灌入适量分离胶溶液（对于 mini-gel，凝胶液加至约距前玻璃板顶端 1.5 cm 或距梳齿约 0.5 cm 即可），然后在分离胶溶液上轻轻覆盖一层 1-5 cm 的水层，使凝胶表面保持平整。

5.静置 30-60min，待分离胶和水层之间出现一个清晰的界面后，表面凝胶已聚合。

二、制备浓缩胶（各试剂使用量请参考附表 2）

1.去除覆盖在分离胶上的水层。

2.将不同体积的 30%Acr-Bis(29:1)、浓缩胶缓冲液和双蒸水在一个小烧杯或试管中混合。

3.加入 10%APS 和 TEMED，轻轻搅拌使其混匀，避免产生气泡。

4.将浓缩胶溶液加至分离胶的上面，直至凝胶溶液到达前玻璃板的顶端。

5.将梳子插入凝胶内，避免产生气泡。

6.静置 10~20min，等待浓缩胶聚合。

7.待凝胶聚合后，小心地拔出梳子，以免破坏加样孔。

8.进行常规电泳操作。

附表 1、SDS-PAGE 分离胶的浓度与最佳分离范围

SDS-PAGE 分离胶的浓度	最佳分离范围
6%胶	50-150KD
8%胶	30-90KD
10%胶	20-80.KD
12%胶	12-60KD
15%胶	10-40KD

附表 2、配制 5%SDS-PAGE 浓缩胶

凝胶体积	所需各组分配体积（单位：ml）				
	双蒸水	30%Acr-Bis(29:1)	浓缩缓冲液（4×）	10%APS	TEMED
2ml	1.14	0.34	0.5	0.02	0.002
4ml	2.28	0.68	1	0.04	0.004
6ml	3.42	1.02	1.5	0.06	0.006
8ml	4.56	1.36	2.0	0.08	0.008

附表 3.配置 SDS-PAGE 分离胶

分离胶 浓度	凝胶 体积	所需各组分配体积（单位：ml）				
		双蒸水	30%Acr-Bis (29:1)	分离胶缓冲液 (4×)	10%APS	TEMED
6%	5ml	2.75	1.0	1.25	0.05	0.004
	10ml	5.5	2.0	2.5	0.1	0.008
	15ml	8.25	3.0	3.75	0.15	0.012
	20ml	11	4.0	5	0.2	0.016
8%	5ml	2.42	1.33	1.25	0.05	0.003
	10ml	4.8	2.7	2.5	0.1	0.006
	15ml	7.25	4.0	3.75	0.15	0.009
	20ml	9.7	5.3	5	0.2	0.012
10%	5ml	2.08	1.67	1.25	0.05	0.002
	10ml	4.17	3.33	2.5	0.1	0.004
	15ml	6.25	5.0	3.75	0.15	0.006
	20ml	8.3	6.7	5	0.2	0.008
12%	5ml	1.75	2.0	1.25	0.05	0.002
	10ml	3.5	4.0	2.5	0.1	0.004
	15ml	5.25	6.0	3.75	0.15	0.006
	20ml	7.0	8.0	5	0.2	0.008
15%	5ml	1.25	2.5	1.25	0.05	0.002
	10ml	2.5	5.0	2.5	0.1	0.004
	15ml	3.75	7.5	3.75	0.15	0.006
	20ml	5	10.0	5	0.2	0.008

BM190403