

SDS-PAGE 凝胶快速配制试剂盒

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。

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, 具体配制的量应根据器具大小决定。

组成:

产品名称	PE016-30T	PE016-150T	Storage
试剂(A):30% Acr-Bis (29:1)	100ml	500ml	4°C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):过硫酸铵粉末	0.5g	2x1g	RT
试剂 (E) : TEMED	2x1ml	2x5ml	4°C避光
说明书	一份		

保存条件: 。

常温保存, 一年有效。

操作步骤(仅供参考):

- 1、配制 10%过硫酸铵: 直接在 0.5g Ammonium Persulfate 中加入 5ml 蒸馏水 (1g Ammonium Persulfate 中加入 10ml 蒸馏水), 充分溶解, 分装成小份储存于-20°C或 4°C。注意: 一般用 1.5mlEP 管分装成 0.5-1ml 每支, -20 °C 保存, 每支使用 2-3 次即弃用。短期使用时, 可保存于 4°C, 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
6%胶	50-150kD
8%胶	30-90kD

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



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	30	50
蒸馏水	2.6	5.3	7.9	10.6	15.9	26.5
30% Acr-Bis (29:1)	1.0	2.0	3.0	4.0	6.0	10.0
下层胶缓冲液 (4×)	1.3	2.5	3.8	5.0	7.5	12.5
10%过硫酸铵	0.05	0.1	0.15	0.2	0.3	0.5
TEMED	0.004	0.008	0.012	0.016	0.024	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	30	50
蒸馏水	2.3	4.6	6.9	9.3	13.9	23.2
30% Acr-Bis (29:1)	1.3	2.7	4.0	5.3	8.0	13.3
下层胶缓冲液 (4×)	1.3	2.5	3.8	5.0	7.5	12.5
10%过硫酸铵	0.05	0.1	0.15	0.2	0.3	0.5
TEMED	0.003	0.006	0.009	0.012	0.018	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	30	50
蒸馏水	1.9	4.0	5.9	7.9	11.9	19.8
30% Acr-Bis (29:1)	1.7	3.3	5.0	6.7	10.0	16.7
下层胶缓冲液 (4×)	1.3	2.5	3.8	5.0	7.5	12.5
10%过硫酸铵	0.05	0.1	0.15	0.2	0.3	0.5
TEMED	0.002	0.004	0.006	0.008	0.012	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	30	50
蒸馏水	1.6	3.3	4.9	6.6	9.9	16.5
30% Acr-Bis (29:1)	2.0	4.0	6.0	8.0	12.0	20.0
下层胶缓冲液 (4×)	1.3	2.5	3.8	5.0	7.5	12.5
10%过硫酸铵	0.05	0.1	0.15	0.2	0.3	0.5
TEMED	0.002	0.004	0.006	0.008	0.012	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	30	50
蒸馏水	1.1	2.2	3.4	4.6	6.9	11.5
30% Acr-Bis (29:1)	2.5	5.0	7.5	10.0	15.0	25

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



下层胶缓冲液 (4×)	1.3	2.5	3.8	5.0	7.5	12.5
10%过硫酸铵	0.05	0.1	0.15	0.2	0.3	0.5
TEMED	0.002	0.004	0.006	0.008	0.012	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	0.080	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×)；蛋白上样缓冲液可自行配制或采购 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%溶液后应当-20℃保存。应尽量减少室温存放时间以防失效。有效避免失效的方法是分成小份，-20℃保存，用 2~3 次，剩余的弃用，亦可 4℃保存几天。
- 2、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 TEMED 的用量，控制在不同的室内环境下凝胶凝聚的速度。
- 3、配制聚丙烯凝胶的过程中，如果室温较低，可以置于 37℃放置，加速凝固。
- 4、30%Acr-Bis(29:1)有轻微神经毒性，请小心操作。
- 5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 6、本产品仅供科研使用，严禁它用。

