

产品信息:

组成	保存	PA106-01 40-60 块胶	PA106-02 200-300 块胶
30%Acr-Bis(29:1)	2-8℃	100ml	500ml
分离胶缓冲液	2-8℃	100ml	500ml
浓缩胶缓冲液	2-8℃	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。
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 的醇或水层，使凝胶表面保持平整。
5. 静置 30-60min，待分离胶和醇或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（APS 和 TEMED 加入量提供参考，可调整。）

凝胶体积	所需各组分体积（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 (APS 和 TEMED 加入量提供参考, 可调整。)

240520

分离胶 浓度	凝胶 体积	所需各组体积 (单位: ml)				
		双蒸水	30%Acr-Bis (29:1)	分离胶缓冲液 (4×)	10%APS	TEMED
6%	5ml	2.70	1.0	1.25	0.05	0.005
	10ml	5.39	2.0	2.5	0.1	0.010
	15ml	8.09	3.0	3.75	0.15	0.015
	20ml	10.78	4.0	5	0.2	0.020
8%	5ml	2.37	1.33	1.25	0.05	0.005
	10ml	4.69	2.7	2.5	0.1	0.010
	15ml	7.09	4.0	3.75	0.15	0.015
	20ml	9.48	5.3	5	0.2	0.020
10%	5ml	2.03	1.67	1.25	0.05	0.005
	10ml	4.06	3.33	2.5	0.1	0.010
	15ml	6.09	5.0	3.75	0.15	0.015
	20ml	8.08	6.7	5	0.2	0.020
12%	5ml	1.70	2.0	1.25	0.05	0.005
	10ml	3.39	4.0	2.5	0.1	0.010
	15ml	5.09	6.0	3.75	0.15	0.015
	20ml	6.78	8.0	5	0.2	0.020
15%	5ml	1.20	2.5	1.25	0.05	0.005
	10ml	2.39	5.0	2.5	0.1	0.010
	15ml	3.59	7.5	3.75	0.15	0.015
	20ml	4.78	10.0	5	0.2	0.020