



SDS-PAGE凝胶快速制备及电泳试剂盒

产品编号及规格:

RTD6116 50次

产品组成:

货号	名称	规格	贮存
AC2914-02	40%PAA(29:1)	100 ml	4℃
TS050-01	4×Tris/SDS分离胶缓冲液 pH8.8	100 ml	4℃
TS030-01	4×Tris/SDS浓缩胶缓冲液 pH6.8	50 ml	4℃
AP020P	10% APS (干粉)	5 ml	RT
TA0761-01	TEMED	0.5ml	4℃, 避光
PL080	5×MonoColor蛋白上样缓冲液	1 ml	-20℃
TG120P	5×Tris-甘氨酸电泳缓冲液(干粉)	1 L	RT

产品简介:

本公司提供的SDS-PAGE蛋白电泳试剂盒包含凝胶制备以及蛋白电泳所需的全部试剂。本试剂盒可配制至少50块常规大小的PAGE胶。

使用说明:

一. 准备工作:

1. 根据目的蛋白的分子量大小选择合适的凝胶浓度。

表一 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%	50-150 kD
8%	30-90 kD
10%	20-80 kD
12%	12-60 kD
15%	10-40 kD

2. 10% APS配制—5 ml: 将0.5 g APS干粉溶于5 ml 灭菌水中, 彻底溶解后分装, 1 ml/支, -20℃ 备存, 每次取一管使用。10% APS应尽量减少室温存放时间, 以防失效。10%APS在4℃有效期为一周, -20℃有效期6个月。若发现凝胶聚合时间延长, 应考虑更换使用-20度保存的10%APS。

二. 制胶:

I 配制分离胶:

1. 参照凝胶模具说明书, 装配好凝胶模具。
2. 按照表二将不同体积的成分在小烧杯中混匀; 随后加入10%APS和TEMED, 轻轻搅拌使其混匀, 避免产生气泡。

表二 SDS-PAGE分离胶配方表

	浓缩胶		分离胶		
	4%	8%	10%	12%	15%
40% PAA(29:1)	0.2 ml	1 ml	1.25 ml	1.5 ml	1.9 ml
4×浓缩胶缓冲液	0.5 ml	-	-	-	-
4×分离胶缓冲液	-	1.25 ml	1.25 ml	1.25 ml	1.25 ml
超纯水	1.3 ml	2.7 ml	2.5 ml	2.2 ml	1.9 ml
TEMED	2 μl	5 μl	5 μl	5 μl	5 μl
10% APS	20 μl	50 μl	50 μl	50 μl	50 μl
总体积	2 ml	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml

3. 在凝胶模具中灌入适量分离胶溶液(对于8×10cm凝胶, 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。
4. 常温静置10-20分钟, 待分离胶和水层之间出现一个清晰的界面后, 说明凝胶已聚合。

II 配制浓缩胶:

1. 去除覆盖在分离胶上的水层。
2. 按照表二将不同体积成分在一个小烧杯中混匀; 加入10%过硫酸铵和TEMED, 轻轻搅拌使其混匀, 避免产生气泡。
3. 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。
4. 将梳子插入凝胶内, 避免产生气泡。
5. 常温静置20-30分钟, 等待浓缩胶聚合

三 电泳:

1. 5×Tris-甘氨酸电泳缓冲液(5×TGS)的配制:

将一包5×TGS干粉全部倒入1L烧杯中, 加入约900 ml水彻底溶解, 用水定容至1 L, 即配成5×TGS 缓冲液(此溶液不用调节pH值)。

电泳前将缓冲液稀释5倍即配成1×TGS电泳缓冲液。

2. 样品处理: 融化-混合-变性-上样

- ① 将5×MonoColor蛋白上样缓冲液常温融化后混匀。
- ② 将上样缓冲液与蛋白样品按照1: 4的比例混匀。
- ③ 将蛋白样品置于95℃中加热5分钟使蛋白样品充分变性。
- ④ 样品凉至室温后, 快甩离心收集到管底, 上样电泳。

3. 电泳:

恒电压	150 V
起始电流	35-40 mA
终止电流	10-15 mA
电泳时间	40-50 min

4. 染色或进行下游实验。