

## SDS-PAGE Gel Preparation Kit

### SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒

#### 产品信息

产品名称	产品编号	规格
SDS-PAGE Gel Preparation Kit	20328ES50	1 kit (30~50 gels)
SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒	20328ES72	1 kit (150~250 gels)

#### 产品描述

蛋白电泳经常使用聚丙烯酰胺凝胶来实现蛋白分离，此类凝胶一般由浓缩胶和分离胶两部分组成，前者起到将蛋白样品进行浓缩的作用，后者则是根据凝胶所使用的丙烯酰胺单体和 N,N-亚甲基双丙烯酰胺（甲叉丙烯酰胺）交联剂的浓度不同从而分离不同大小范围的蛋白质。

本试剂盒提供了配制 SDS-PAGE 凝胶所需的各种试剂，用户只需自备制胶设备和蒸馏水即可配胶，大大简化了制胶过程，货号 20328ES50 可配制 30-50 块常规大小的凝胶，20328ES72 可配制 150~250 块常规大小的凝胶。

#### 产品组分

组分编号	组分名称	产品编号/规格		保存方式
		20328ES50 (30~50 gels)	20328ES72 (150~250 gels)	
20328-A	30%丙烯酰胺/甲叉双丙烯酰胺, 29:1	100 mL	500 mL	4°C避光
20328-B	4×Tris-HCl-SDS 分离胶缓冲液, pH 8.8	70 mL	350 mL	4°C
20328-C	4×Tris-HCl-SDS 浓缩胶缓冲液, pH 6.8	30 mL	90 mL	4°C
20328-D	APS 过硫酸铵	0.5 g	2.5 g	4°C
20328-E	TEMED 四甲基乙二胺	0.6 mL	2.8 mL	4°C避光

#### 运输和保存方法

室温运输。4°C避光保存，有效期 12 个月。

#### 注意事项

1. 丙烯酰胺溶液和 TEMED 有毒，请适当防护。
2. APS 溶液不稳定，当配制成 10%溶液后，分装成-20°C冻存。尽量减少室温存放时间，以防失效。若是发现凝胶聚合时间明显延长，需要更换使用其它-20°C冻存或者新鲜配置的 10%APS。
3. TEMED 易挥发，使用后请盖紧瓶盖。
4. 凝胶凝聚的速度与温度、光照、以及 TEMED、APS 的用量关系密切。在其他组分用量不变的前提下，可通过适当调节 TEMED 以及 APS 的用量，控制现有室温条件下凝胶凝聚的速度。可参考附件的量进行相应的调整。
5. 温度较低时，4×Tris-HCl-SDS 分离胶缓冲液和 4×Tris-HCl-SDS 浓缩胶缓冲液中的 SDS 可能析出。此时需水浴温育，并在完全溶解和混匀后使用。
6. 凝胶配制过程，特别是液体混匀步骤，需尽量避免气泡的产生。
7. 在分离胶上层进行水压时需小心操作，加水速度不宜过快。
8. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
9. 本产品仅作科研用途！

## 使用方法

### 1 根据目的蛋白的分子量大小选择合适的凝胶浓度【参考附表 1】

### 2 按照附表 2 配制相应浓度的 SDS-PAGE 分离胶，制胶程序如下：

- 2.1 将不同体积的 30% Acr-Bis(29:1)、4×分离胶缓冲液和蒸馏水在试管或者小烧杯内混合；
- 2.2 加入 10% APS 和 TEMED，轻轻搅拌使其混匀，避免气泡产生；
- 2.3 在装好的制胶模具中灌入适量分离胶溶液，对于 mini 胶，分离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 1-5cm 的水层，从而压平凝胶表面；
- 2.4 静置 30-60 min，待分离胶和水层之间出现一个清晰的界面，表面凝胶已聚合；

### 3 按照附表 3 配制 SDS-PAGE 浓缩胶，制胶程序如下：

- 3.1 去除覆盖在分离胶上的水层。
- 3.2 将不同体积的 30% Acr-Bis(29:1)、4×浓缩胶缓冲液和蒸馏水在试管或者小烧杯内混合；
- 3.3 加入 10% APS 和 TEMED，轻轻搅拌使其混匀，避免产生气泡。
- 3.4 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。
- 3.5 将梳子插入凝胶内，避免产生气泡。
- 3.6 静置 10-20 min，等待浓缩胶聚合。
- 3.7 待凝胶聚合后，小心地拔出梳子，以免破坏加样孔。
- 3.8 可用电泳缓冲液吹走孔内残留的一些胶液【可选】，然后进行上样和后续的常规电泳操作。

附表 1. 不同浓度 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%凝胶	50-150 KD
8%凝胶	30-90 KD
10%凝胶	20-80 KD
12%凝胶	12-60 KD
15%凝胶	10-40 KD

附表 2. 不同浓度 SDS-PAGE 分离胶配制体系

分离胶浓度	凝胶体积 (mL)	所需各组分体积 (单位: mL)				
		蒸馏水	30% Acr-Bis (29:1)	4×Tris-HCl-SDS 分离胶缓冲液, pH 8.8	10% APS	TEMED
6%	5	2.7	1.0	1.25	0.05	0.004
	10	5.4	2.0	2.5	0.1	0.008
	15	8.1	3.0	3.75	0.15	0.012
	20	10.8	4.0	5.0	0.2	0.016
	30	16.2	6.0	7.5	0.3	0.024
	50	27.0	10.0	12.5	0.5	0.040
8%	5	2.37	1.33	1.25	0.05	0.003
	10	4.7	2.7	2.5	0.1	0.006
	15	7.1	4.0	3.75	0.15	0.009
	20	9.5	5.3	5.0	0.2	0.012
	30	14.2	8.0	7.5	0.3	0.018
	50	23.7	13.3	12.5	0.5	0.030
10%	5	2.03	1.67	1.25	0.05	0.002
	10	4.07	3.33	2.5	0.1	0.004
	15	6.1	5.0	3.75	0.15	0.006
	20	8.1	6.7	5.0	0.2	0.008
	30	12.2	10.0	7.5	0.3	0.012
	50	20.3	16.7	12.5	0.5	0.020
12%	5	1.7	2.0	1.25	0.05	0.002
	10	3.4	4.0	2.5	0.1	0.004
	15	5.1	6.0	3.75	0.15	0.006
	20	6.8	8.0	5.0	0.2	0.008
	30	10.2	12.0	7.5	0.3	0.012
	50	17.0	20.0	12.5	0.5	0.020
15%	5	1.2	2.5	1.25	0.05	0.002
	10	2.4	5.0	2.5	0.1	0.004
	15	3.6	7.5	3.75	0.15	0.006
	20	4.8	10.0	5.0	0.2	0.008
	30	7.2	15.0	7.5	0.3	0.012
	50	12.0	25.0	12.5	0.5	0.020

附表 3. 5% SDS-PAGE 浓缩胶配制体系

凝胶体积 (mL)	所需各组分体积 (单位: mL)				
	蒸馏水	30% Acr-Bis (29:1)	4×Tris-HCl-SDS 浓缩胶缓冲液, pH 6.8	10% APS	TEMED
2	1.14	0.34	0.5	0.02	0.002
4	2.28	0.68	1.0	0.04	0.004
6	3.42	1.02	1.5	0.06	0.006
8	4.56	1.36	2.0	0.08	0.008