

中科瑞泰(北京)生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// www.real-tims.com.cn

E-mail: real-times@vip.163.com

SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒

Ver.731180

货号	名称	规格
RTD6123	SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒	50 次

● 产品组成:

-//-			
货号	名称	规格	保存条件
AC2913-01	30%PAA(29:1)	100 ml	4℃
TS0588-01	1M Tris-HCl pH8.8	100 ml	RT
TS0568-15ml	1M Tris-HCl pH6.8	15 ml	RT
SD050-5ml	10% SDS	5 ml	RT
AP020P	10% APS (干粉)	5 ml	RT 配制后-20℃贮存
TA0761-01	TEMED	0.5 ml	4℃,避光
	说明书	一份	

● 产品简介:

本公司提供的 SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒包含凝胶制备所需的全部试剂,用户只需自备制胶器 具和蒸馏水。本试剂盒不仅可用于配制 SDS-PAGE 凝胶,也可用于配制非变性(Native)PAGE 凝胶。本试剂盒可配制至少 30-50 块常规大小的 PAGE 胶。

● 贮存、运输及效期:

按照标签温度贮存; 常温运输; 有效期一年。

● 使用说明:

一 配制分离胶:

根据目的蛋白的分子量大小选择合适的凝胶浓度(表一)。

表一 不同浓度的 SDS-PAGE 分离胶的最佳分离范围:

	7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7		
SDS-PAGE 分离胶浓度	最佳分离范围		
6%	50-350kD		
8%	35-300kD		
10%	20-150kD		
12%	15-100kD		
15%	10-80kD		

配制分离胶前,根据以下配方准备 10% APS:

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。制备分离胶步骤:

- 1. 参照凝胶模具说明书,装配好凝胶模具。
- 2. 根据表二,将不同体积的成分在小烧杯或试管中混合;先后加入 TEMED 和 10%APS,轻轻搅拌 使其混匀,避免产生气泡。
- 3. 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。

- 4. 静置 15-20 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。
 - 注:凝胶的聚合时间与环境温度有关。夏天温度较高时,聚合较快;冬天气温低时,聚合时间会延长。可以根据 环境温度的不同调节 APS 的加入量。

表二 SDS-PAGE 分离胶配方表

	不同凝胶体积对应各组份的取样量(ml)			
6% 胶	5ml	10ml	15ml	20ml
H₂O	2.05	4.1	6.15	8.2
1M Tris-HCl pH8.8	1.9	3.8	5.7	7.6
30% PAA (29:1)	1	2	3	4
10% SDS	0.05	0.1	0.15	0.2
TEMED	0.005	0.01	0.015	0.02
10% APS	0.05	0.1	0.15	0.2
8% 胶	5ml	10ml	15ml	20ml
H ₂ O	1.7	3.3	5	6.7
1M Tris-HCl pH8.8	1.9	3.8	5.7	7.6
30% PAA (29:1)	1.3	2.7	4	5.3
10% SDS	0.05	0.1	0.15	0.2
TEMED	0.005	0.01	0.015	0.02
10% APS	0.05	0.1	0.15	0.2
10% 胶	5ml	10ml	15ml	20ml
H ₂ O	1.3	2.7	4	5.3
1M Tris-HCl pH8.8	1.9	3.8	5.7	7.6
30% PAA (29:1)	1.7	3.3	5	6.7
10% SDS	0.05	0.1	0.15	0.2
TEMED	0.005	0.01	0.015	0.02
10% APS	0.05	0.1	0.15	0.2
12% 胶	5ml	10ml	15ml	20ml
H ₂ O	1	2	3	4
1M Tris-HCl pH8.8	1.9	3.8	5.7	7.6
30% PAA (29:1)	2	4	6	8
10% SDS	0.05	0.1	0.15	0.2
TEMED	0.003	0.006	0.009	0.012
10% APS	0.05	0.1	0.15	0.2
15% 胶	5ml	10ml	15ml	20ml
H₂O	0.5	1	1.5	2
1M Tris-HCl pH8.8	1.9	3.8	5.7	7.6
30% PAA (29:1)	2.5	5	7.5	10
10% SDS	0.05	0.1	0.15	0.2
TEMED	0.003	0.006	0.009	0.012
10% APS	0.05	0.1	0.15	0.2

注:如果配制非变性胶,参考上述配方,不加 10% SDS 即可配制成非变性 PAGE 胶。

二 浓缩胶制备:

1. 去除覆盖在分离胶上的水层。

- 2. 按照表三将不同成分在一个小烧杯或试管中混合,先后加入 TEMED 和 10%过硫酸铵,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. 静置 30-60 分钟,等待浓缩胶聚合。
 - 注:凝胶的聚合时间与环境温度有关。夏天温度较高时,聚合较快;冬天气温低时,聚合时间会延长。可以根据 环境温度的不同调节 APS 的加入量。

表三 SDS-PAGE 浓缩胶(5%)配方表

100 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10					
组份	不同凝胶体积对应各组份的取样量(ml)				
	2 ml	4 ml	6 ml	10 ml	
H ₂ O	1.4	2.7	4.1	6.8	
1M Tris-HCl pH6.8	0.25	0.5	0.75	1.25	
30% PAA (29:1)	0.33	0.67	1	1.7	
10% SDS	0.02	0.04	0.06	0.1	
TEMED	0.002	0.004	0.006	0.01	
10% APS	0.02	0.04	0.06	0.1	