

SDS-PAGE 浓缩胶缓冲液(4×,pH6.8)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

产品简介：

本试剂为配制 SDS-PAGE 浓缩胶缓冲液，可用于配制各种浓度的变性及非变性 PAGE 凝胶，方便、快捷。产品中已加入 10%SDS，使用时不用另外加入。

产品组成：

产品名称	规格	保存条件	说明书	有效期
SDS-PAGE 浓缩胶缓冲液 4(×,pH6.8)	100ml/500ml	RT	1 份	1 年

自备材料：

- 1、凝胶模具
- 2、Acr-Bis(30%,29:1)
- 3、10%APS(过硫酸铵)
- 4、TEMED
- 5、蒸馏水

操作步骤(仅供参考)：

根据目的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)灌制分离胶(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。(注：加入上层筛板有助于加样时保持填料与样品均匀接触，是否加入上层筛板可根据实际情况选择。)
- 2、将 Acr-Bis(30%,29:1)、分离胶缓冲液和蒸馏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 0.5cm 即可)，然后在分离胶溶液上轻轻覆盖一层 1~2cm 的水层，使凝胶表面保持平整。
- 6、静置 30~60min，待分离胶和水层之间出现一个清晰的界面后，表面凝胶已聚合。

(二)灌制浓缩胶(各试剂使用量请参考附表 2)

- 1、小心倾倒入覆盖在分离胶上的水层。
- 2、将 Acr-Bis(30%,29:1)、浓缩胶缓冲液和蒸馏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。

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、Acr-Bis(30%,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。

附表：

附表 1.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
10%胶	20-80kD
12%胶	12-60kD
15%胶	10-40kD

附表 2.配制 5%SDS-PAGE 的浓缩胶(也称堆积胶、积层胶或上层胶)

凝胶 体积	配制不同体积 SDS-PAGE 分离胶所需各成分的体积(ml)				
	蒸馏水	Acr-Bis(30%,29:1)	浓缩胶缓冲液(4×)	10%APS	TEMED
2ml	1.14	0.34	0.5	0.02	0.004
4ml	2.28	0.68	1	0.04	0.008
6ml	3.42	1.02	1.5	0.06	0.012
8ml	4.56	1.36	2.0	0.08	0.016

附表 3.配制 SDS-PAGE 分离胶

分离胶 浓度	凝胶	配制不同体积 SDS-PAGE 分离胶所需各成分的体积(ml)
-----------	----	---------------------------------

	体积	蒸馏水	Acr-Bis(30%,29:1)	分离胶缓冲液(4×)	10%APS	TEMED
6%	5ml	2.75	1.0	1.25	0.05	0.004
	10ml	5.5	2.0	2.5	0.1	0.008
	15ml	8.25	3.0	3.75	0.15	0.012
	20ml	11	4.0	5	0.2	0.016
8%	5ml	2.42	1.33	1.25	0.05	0.003
	10ml	4.8	2.7	2.5	0.1	0.006
	15ml	7.25	4.0	3.75	0.15	0.009
	20ml	9.7	5.3	5	0.2	0.012
10%	5ml	2.08	1.67	1.25	0.05	0.002
	10ml	4.17	3.33	2.5	0.1	0.004
	15ml	6.25	5.0	3.75	0.15	0.006
	20ml	8.3	6.7	5	0.2	0.008
12%	5ml	1.75	2.0	1.25	0.05	0.002
	10ml	3.5	4.0	2.5	0.1	0.004
	15ml	5.25	6.0	3.75	0.15	0.006
	20ml	7.0	8.0	5	0.2	0.008
15%	5ml	1.25	2.5	1.25	0.05	0.002
	10ml	2.5	5.0	2.5	0.1	0.004
	15ml	3.75	7.5	3.75	0.15	0.006
	20ml	5.0	10.0	5	0.2	0.008