

SDS-PAGE 分离胶缓冲液(4×,pH8.8)

产品简介

该试剂为配制 SDS-PAGE 分离胶的缓冲液，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。该试剂仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成

| 名称 | 编号 | ADS035E0 | ADS035E1 | Storage |
|-------|---------------------------|----------|----------|---------|
| | SDS-PAGE 分离胶缓冲液(4×,pH8.8) | | 100ml | 500ml |
| 使用说明书 | | 1 份 | | |

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、将不同体积的 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 1.5cm 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。
- 5、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，静置 10~20min，等待浓缩胶聚合。
- 6、待凝胶聚合后小心地拔出梳子，以免破坏加样孔，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。

有效期： 12 个月。

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

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

| 浓度 | 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 |