



版本号：06/2024

SDS-PAGE Gel Kit

SDS-PAGE凝胶制备试剂盒

目录号：CW0022S (40-60 gels)
CW0022M (200-300 gels)

保存条件：2-8℃

产品内容

Component	CW0022S 40-60 gels	CW0022M 200-300 gels
30%Acr-Bis(29:1)	100 mL	2×250 mL
SDS-PAGE Separating Gel Buffer (4×)	100 mL	500 mL
SDS-PAGE Stacking Gel Buffer (4×)	50 mL	250 mL
APS	0.5 g	2.5 g
TEMED	1 mL	5 mL

本产品所提供的APS (过硫酸铵) 为固体粉末, 使用前加入纯水溶解即配制成10% APS溶液 (0.5 g APS加5 mL纯水、2.5 g APS加25 mL纯水), 将溶液分装后置于-20℃保存, 通常半年内有效。溶液在使用中可放置4℃保存两周。

产品简介

本产品包括SDS-PAGE凝胶制备所需全套试剂, 只需自备纯水, 即可制备高质量各种浓度的变性PAGE凝胶, 方便、快捷。本试剂盒在分离胶缓冲液和浓缩胶缓冲液中已加入10%SDS, 使用时不用另外加入。

注意事项

1. 10%APS配制后分装-20度保存。APS溶液不稳定, 应尽量减少室温存放时间, 每次取用后立即放回冰箱, 以防失效; 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。
2. PAGE凝胶的凝聚速度与温度以及APS、TEMED的用量密切相关; 在其它条件不变的情况下, 可通过改变APS及TEMED的用量, 控制PAGE凝胶的聚合速度, 凝胶聚合过快不利于操作; 附表中的APS及TEMED量可供参考, 应根据实际操作情况做适当的调整。
3. 在凝胶配制过程中, 尤其是液体混匀步骤, 应尽量避免气泡的产生。
4. 在分离胶上层加纯水时要小心操作, 加水时速度不能太快。
5. 丙烯酰胺具有神经毒性, 操作时请穿着实验服并佩戴一次性手套。
6. 本产品仅用于科研, 不能用于人体实验或人体治疗。

操作步骤

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。

I 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30%Acr-Bis(29:1)、SDS-PAGE Separating Gel Buffer和纯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0.5 cm即可), 然后在分离胶溶液上轻轻覆盖一层1 cm的水层, 使凝胶表面保持平整。
5. 静置30-60分钟, 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。

II 灌制浓缩胶 (各试剂使用量请参考附表2)

- 1. 去除覆盖在分离胶上的水层。
- 2. 将不同体积的30%Acr-Bis(29:1)、SDS-PAGE Stacking Gel Buffer和纯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10~20分钟, 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。

附表

附表1. SDS-PAGE分离胶的浓度与最佳分离范围

SDS-PAGE 分离胶浓度	最佳分离范围
6%胶	50-150 kD
8%胶	30-90 kD
10%胶	20-80 kD
12%胶	12-60 kD
15%胶	10-40 kD

附表2. 配制5%SDS-PAGE浓缩胶

凝胶 体积	所需各组分体积 (单位: mL)				
	纯水	30%Acr-Bis(29:1)	SDS-PAGE Stacking Gel Buffer (4×)	10%APS	TEMED
2 mL	1.14	0.34	0.5	0.02	0.002
4 mL	2.28	0.68	1.0	0.04	0.004
6 mL	3.42	1.02	1.5	0.06	0.006
8 mL	4.56	1.36	2.0	0.08	0.008

附表3. 配制SDS-PAGE分离胶

分离胶 浓度	凝胶 体积	所需各组分体积（单位：mL）				
		纯水	30%Acr-Bis(29:1)	SDS-PAGE Separating Gel Buffer (4×)	10%APS	TEMED
6%	5 mL	2.75	1.0	1.25	0.05	0.004
	10 mL	5.5	2.0	2.5	0.1	0.008
	15 mL	8.25	3.0	3.75	0.15	0.012
	20 mL	11	4.0	5	0.2	0.016
8%	5 mL	2.42	1.33	1.25	0.05	0.003
	10 mL	4.8	2.7	2.5	0.1	0.006
	15 mL	7.25	4.0	3.75	0.15	0.009
	20 mL	9.7	5.3	5	0.2	0.012
10%	5 mL	2.08	1.67	1.25	0.05	0.002
	10 mL	4.17	3.33	2.5	0.1	0.004
	15 mL	6.25	5.0	3.75	0.15	0.006
	20 mL	8.3	6.7	5	0.2	0.008
12%	5 mL	1.75	2.0	1.25	0.05	0.002
	10 mL	3.5	4.0	2.5	0.1	0.004
	15 mL	5.25	6.0	3.75	0.15	0.006
	20 mL	7.0	8.0	5	0.2	0.008
15%	5 mL	1.25	2.5	1.25	0.05	0.002
	10 mL	2.5	5.0	2.5	0.1	0.004
	15 mL	3.75	7.5	3.75	0.15	0.006
	20 mL	5	10.0	5	0.2	0.008