

SDS-PAGE凝胶速配试剂盒(通用浓度)

产品编号：L00670-50T

版本号：05052017

目录

I.	试剂盒描述	1
II.	试剂盒成份	2
III.	储存条件	2
IV.	使用方法	2
V.	浓度配方速查	3
VI.	注意事项	4
VII.	相关产品	4

I 试剂盒描述

金斯瑞 SDS-PAGE 凝胶速配试剂盒提供了制作变性聚丙烯酰胺凝胶 (SDS-PAGE) 的关键试剂。用户只需要准备实验室级别蒸馏水 (推荐使用双蒸水) , 以及满足实验设计要求的玻璃胶板、胶板架、制孔梳, 即可完成变性聚丙烯酰胺凝胶 (以下简称凝胶) 的制备工作。

*本试剂盒提供的试剂适用于制作非连续凝胶, 即凝胶分为浓缩胶和分离胶两部分。使用本试剂盒可以制作分离胶浓度 6%-15% 的凝胶。

*本试剂盒制作的凝胶适用于 Tris-glycine 体系的电泳实验。

II 试剂盒成份

试剂	L00670-50T	说明
30% A 液(29:1)	125ml	2-8°C, 避光
下层胶缓冲液 (B 液)	70ml	RT
上层胶缓冲液 (C 液)	30ml	RT
过硫酸铵 (AP) 粉末	0.5g	使用前配制成 10% (m/V) 水溶液, 分装后-20°C保存
四甲基乙二胺 (TEMED)	500μl	2-8°C, 避光

*所有试剂均需要在规定条件下保存。

*试剂盒 L00670-50T 可以制作小型凝胶片数 (以 8.3cm X 7.3cm 尺寸的玻璃胶板, 制作浓度 12% 的为例) 。

玻璃胶板规格	0.75mm	1mm	1.5mm
L00670-50T	约 70 片	约 50 片	约 35 片

III 储存条件

30% A 液和 TEMED 需要避光保存。

过硫酸铵配制成 10%溶液后，应当分装成小管-20℃保存。

该试剂盒储存在 2-8℃，有效期为 1 年。

IV 使用方法

以制做一片厚度 1mm，尺寸 8.3cm X 7.3cm 的小型凝胶为例。（分离胶体积大约为 5ml，浓缩胶体积大约 2ml）

- 1、根据所分析的蛋白大小，选择合适的分离胶浓度。针对目的蛋白的分子量大小，推荐参考速查表选择凝胶浓度。在此以分离胶浓度 12%为例。
- 2、清洗玻璃胶板和配件，并使其干燥。将胶板组合，并装置在支架上。注意防止玻璃胶板两侧和底部渗漏。
- 3、配制分离胶：准备一只清洁且干燥的玻璃烧杯，使用移液器吸取 A 液 2ml（30% X 2ml / 5ml = 12%），B 液 1.25ml，蒸馏水（推荐双蒸水）1.7ml，10%AP 50μl，TEMED 2μl。环境温度高时，混合的胶液聚凝会加快。充分混匀后，应尽快加注到玻璃胶板中。此过程尽量不要产生气泡。一般情况下，分离胶顶端需要与制孔梳底端间隔 1cm。
- 4、使用移液器吸取蒸馏水，慢慢加注到分离胶表层。由于凝胶密度较大，蒸馏水会漂浮在胶液表面，将分离胶压平。
- 5、待分离胶聚凝后（液面分界线变明显后），将蒸馏水倒出，可使用滤纸将残留蒸馏水吸干。
- 6、配制浓缩胶：准备一只清洁且干燥的烧杯，使用移液器吸取 A 液 0.33ml，C 液 0.5ml，蒸馏水（推荐使用双蒸水）1.17ml，10%AP 20μl，TEMED 2μl（凝胶终浓度 5%）。充分混匀后加注到玻璃胶板，分离胶之上。并安装胶板配套规格的制孔梳。
- 7、浓缩胶凝固后，即可移除制孔梳和胶架，用于蛋白分析实验。
- 8、电泳时，请使用 1×Tris-glycine SDS running buffer 进行电泳。

V 浓度配方速查

最佳分离范围	分离胶浓度	试剂	用量			
			1 片凝胶	2 片凝胶	4 片凝胶	n 片凝胶
50-150KDa	6%	A 液	1.0ml	2ml	4ml	1.0ml×n
		B 液	1.25ml	2.5ml	5ml	1.25ml×n
		蒸馏水	2.7ml	5.4ml	10.8ml	2.7ml×n
		10%AP	50μl	100μl	200μl	50μl×n
		TEMED	4μl	8μl	16μl	4μl×n
30-90KDa	8%	A 液	1.3ml	2.7ml	5.3ml	1.3ml×n
		B 液	1.25ml	2.5ml	5.0μl	1.25ml×n
		蒸馏水	2.4ml	4.7ml	9.5μl	2.4ml×n
		10%AP	50μl	100μl	200μl	50μl×n
		TEMED	3μl	6μl	12μl	3μl×n
20-80KDa	10%	A 液	1.7ml	3.3ml	6.7ml	1.7ml×n
		B 液	1.25ml	2.5ml	5.0ml	1.25ml×n
		蒸馏水	2.0ml	4.1ml	8.1ml	2.0ml×n
		10%AP	50μl	100μl	200μl	50μl×n
		TEMED	2μl	4μl	8μl	2μl×n
12-60KDa	12%	A 液	2.0ml	4.0ml	8.0ml	2.0ml×n
		B 液	1.25ml	2.5ml	5.0ml	1.25ml×n
		蒸馏水	1.7ml	3.4ml	6.8ml	1.7ml×n
		10%AP	50μl	100μl	200μl	50μl×n
		TEMED	2μl	4μl	8μl	2μl×n
10-40KDa	15%	A 液	2.5ml	5.0ml	10.0ml	2.5ml×n
		B 液	1.25ml	2.5ml	5.0ml	1.25ml×n
		蒸馏水	1.2ml	2.4ml	4.8ml	1.2ml×n
		10%AP	50μl	100μl	200μl	50μl×n
		TEMED	2μl	4μl	8μl	2μl×n
浓缩胶	5%	A 液	0.33ml	0.66ml	1.3ml	0.33ml×n
		C 液	0.5ml	1.0ml	2.0ml	0.5ml×n
		蒸馏水	1.17ml	2.34ml	4.7ml	1.17ml×n
		10%AP	20μl	40μl	80μl	20μl×n
		TEMED	2μl	4μl	8μl	2μl×n

*以上 10%AP 和 TEMED 的用量是在室温 25℃时的用量。

*凝胶凝聚的速度和温度及光照关系密切，可通过适当调节 10%AP 和 TEMED 的用量来控制不同室内环境下凝胶凝聚的速度。冬天环境温度较低，可通过把架胶支架放在 37℃烘箱制胶或适当增加 10%AP 和 TEMED 的用量。

5×Tris-glycine SDS 电泳缓冲液配方 (1L)

	试剂	用量
5×Tris-glycine SDS 电泳缓冲液配方	Tris	15.1g
	Glycine	94g
	SDS	5g

* 使用时，需要用蒸馏水稀释成 1×Tris-glycine SDS 电泳缓冲液进行电泳。

VI 注意事项

- 1、TEMED 易挥发，易燃，有腐蚀性，具强神经毒性，使用后请盖紧瓶盖。请勿大量吸入。
- 2、AP 对皮肤粘膜有刺激性和腐蚀性。吸入后可引起鼻炎、喉炎、气短和咳嗽等。眼、皮肤接触可引起强烈刺激、疼痛甚至灼伤。口服引起腹痛、恶心和呕吐。长期皮肤接触可引起变应性皮炎。
- 3、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套，戴口罩操作。

VII 相关产品

5×Sample Buffer	产品编号：MB01015
Transfer Buffer	产品编号：M00139
eStain Protein Pads	产品编号：L02011

For research use only