天净沙系列

CAT#:5-012

常温运输，4-25℃保存

天净沙

# 40%丙烯酰胺-甲叉双丙烯酰胺（19:1）溶液

# 40% Acrylamide-Bis-Acrylamide (19:1) Solution

# 使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

## 产品及特点

本产品是浓度为 40%的丙烯酰胺和甲叉双丙烯酰胺混合物，丙烯酰胺与甲叉双丙烯酰胺的比例为 19:1。本产品主要用于蛋白质和核酸 PAGE 电泳的 PAGE 胶制备。使用本产品可以让用户避免接触丙烯酰胺。本产品只能用于科研。

## 规格及成分

本产品使用大立盒包装

| 成分 | 编号 | 规格 | 包装 |
|---|---|---|---|
| 40%丙烯酰胺-甲叉双丙烯酰胺（19:1）溶液 | 5-012 | 250 mL | 250 mL 本色瓶 |
| 使用手册 | 5-012sc | 1 份 | 无 |

## 运输及保存

常温运输，4-25℃保存，有效期一年。

## 自备物品

去离子水，过硫酸铵干粉，TEMED，4×分离胶缓冲液，4×浓缩胶缓冲液。

## 使用流程

注：40%丙烯酰胺/甲叉双丙烯酰胺（19:1）溶液（以下简称 40% AB 溶液）。

1. 根据平板的面积和胶的厚度估计需要配制的浓缩胶和分离胶的体积。并根据要分离的蛋白质的大小确定选择浓缩胶和分离胶的浓度，参考下表:

| 蛋白质大小范围（kD） | 最佳浓缩胶浓度 | 最佳分离胶浓度 |
|---|---|---|
| 15-45 | 4% | 15% |
| 15-60 | 4% | 12.5% |
| 18-75 | 4% | 10% |
| 30-120 | 4% | 7.5% |
| 60-200 | 不需要 | 5% |

注：如果上样体积少于 10 μL，可以不需要浓缩胶。

2. 配制 10%的过硫酸铵：称 0.1 g 自备过硫酸铵干粉到 1 mL 去离子水中，摇晃溶解得到 10%过硫酸铵溶液。没用完的本溶液需 4℃存放，一周后就不能再用。

3. 配制分离胶溶液：在一个 25 mL 的三角瓶中，先按下表的用量加入水、40%的 AB 溶液和 4×分离胶缓冲液。以下是配制 10 mL 胶的用量，更大体积则各成分用量需按比例增加。丙烯酰胺溶液有神经毒性，一定要戴手套操作。

| 分离胶浓度 | 用量（单位：mL） | | |
|---|---|---|---|
| | 水 | 40% AB 溶液 | 4×分离胶缓冲液 |
| 5% | 6.25 | 1.25 | 2.50 |
| 6% | 6.00 | 1.50 | 2.50 |
| 7% | 5.75 | 1.75 | 2.50 |
| 7.5% | 5.62 | 1.88 | 2.50 |
| 8% | 5.5 | 2.00 | 2.50 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 9% | 5.28 | 2.25 | 2.50 |
| 10% | 5.00 | 2.50 | 2.50 |
| 11% | 4.75 | 2.75 | 2.50 |
| 12% | 4.50 | 3.00 | 2.50 |
| 13% | 4.25 | 3.25 | 2.50 |
| 14% | 4.00 | 3.50 | 2.50 |
| 15% | 3.75 | 3.75 | 2.50 |
| 16% | 3.5 | 4.00 | 2.50 |

4. 配制浓缩胶溶液（一般使用 4%的浓度）：在一个 25 mL 的三角瓶中，先按下表的用量加入水、40% AB 溶液和 4×浓缩胶缓冲液。以下是配制 10 mL 4%浓缩胶的用量，丙烯酰胺溶液具有神经毒性，一定要戴手套操作。

| 浓缩胶浓度 | 用量（单位：mL） | | |
|---|---|---|---|
| | 水 | 40% AB 溶液 | 4×浓缩胶<br>缓冲液（无染料） |
| 4% | 6.50 | 1.00 | 2.50 |

5. 将分离胶和浓缩胶溶液摇晃混匀，抽真空 10-15 分钟以去除溶液中的氧气（氧气能抑制丙烯酰胺聚合反应，不去除将影响丙烯酰胺聚合反应，胶凝固时间会更长）。
6. 各加入 50 μL 在第 2 步制备的 10%过硫酸铵溶液和 40 μL TEMED（这是配制 10 mL 分离胶和浓缩胶的用量，更大体积的胶则用量需按比例增加），迅速摇匀。
7. 先灌分离胶，在分离胶的液面距离顶部 1.5 cm 的时候，停止灌胶。
8. 由于分离胶比重较大，可以立即在上面灌浓缩胶，但灌注时必须小心，不要破坏分离胶和浓缩胶的交接面，在浓缩胶液面达到顶部时停止灌胶，插入梳子，室温聚合 30-60 分钟。也可以等分离胶在室温聚合 30-60 分钟，胶凝固后再灌制。
9. 拔出梳子，用电泳液冲洗加样孔。
10. 将凝胶板固定在电泳装置上，往上下槽加入足够的 1×电泳缓冲液，待用。

**关联产品** 30%丙烯酰胺-甲叉双丙烯酰胺（37.5:1）溶液