天净沙系列

CAT#:220959

常温运输和保存

但有一个低温成分

天净沙

SDS-PAGE 电泳试剂盒

SDS-PAGE Electrophoresis Kit

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

SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳（SDS-PAGE）是目前电泳法变性分离蛋白质的主要方法，但是单独配制各种溶液十分繁琐，为了解决此问题，本公司开发了本产品。它具有下列特点：

1. 一站式，即开即用，用户不需单独准备各种成分，十分方便。
2. 安全，将实验人员接触粉末状丙烯酰胺的可能降到最低。
3. 灵活，用于可以用 30%的丙烯酰胺/甲叉双丙烯酰胺母液，自行配制各种浓度的 PAGE 胶，满足分离不同大小蛋白质的需求。
4. 使用含染料的改良浓缩胶缓冲液，浓缩胶呈蓝色，便于上样时识别加样孔。
5. 电泳后可直接用于考染、银染、Western 杂交等实验。
6. 本产品只能用于科研。

规格及成分

下列成分用大纸盒包装，常温运输

成份	编号	规格	包装
丙烯酰胺/甲叉双丙烯酰胺干粉（19:1）	220959a	57g+3g	250 mL 棕色瓶
4×分离胶缓冲液	5-475	200 mL	250 mL 本色瓶
4×改良浓缩胶缓冲液	230323	100 mL	120 mL 本色瓶
TEMED	110-18-9	1.5 mL	2 mL 白盖管
过硫酸铵	100879	1 g	1.5 mL 白盖管
SDS-PAGE 电泳液干粉	220996	368g	250 mL 本色瓶
使用手册	220959sc	1 份	无

下列成分塑料袋包装，低温运输

成份	编号	规格	包装
5×SDS-PAGE 上样液	220624	1 mL	1.5 mL 白盖管

运输及保存

常温运输和保存，但 5×SDS-PAGE 上样液需低温运输，-20℃保存。有效期一年

自备试剂

去离子水

使用方法

注意：第一次使用本产品时需先配制 30%丙烯酰胺-甲叉双丙烯酰胺（19:1）溶液（30% AB 溶液，下同）

1. 在本产品提供的装有 57g 丙烯酰胺/3g 甲叉双丙烯酰胺干粉的瓶中加入 146 mL 自备的去离子水，充分摇晃 10-20 分钟即得 200 mL 30%丙烯酰胺/甲叉双丙烯酰胺（19:1）溶液（以下简称 30%AB 溶液）。丙烯酰胺与甲叉双丙烯酰胺比例在 19:1 时，PAGE 胶的孔径最小，分辨率最高。配好的 30%

AB 溶液最好 4℃避光保存并在 1 月内用完。

2. 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 10uL，可以不需要浓缩胶。

3. 配制 10%的 APS（过硫酸铵）：称 0.1 克过 APS 干粉到 1 mL 去离子水中，摇晃溶解。没用完的 10%APS 溶液需 4℃存放，一周后就不能再用。

4. 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、30%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	30%AB 溶液	4×分离胶缓冲液
5%	5.83	1.67	2.50
6%	5.50	2.00	2.50
7%	5.17	2.33	2.50
7.5%	5.00	2.50	2.50
8%	4.83	2.67	2.50
9%	4.50	3.00	2.50
10%	4.17	3.33	2.50
11%	3.83	3.67	2.50
12%	3.50	4.00	2.50
13%	3.17	4.33	2.50
14%	2.83	4.67	2.50
15%	2.50	5.00	2.50
16%	2.17	5.33	2.50

5. 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、30%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	30%AB 溶液	4×改良浓缩胶缓冲液
4%	6.17	1.33	2.50

	6. 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）。 7. 各加入 50 uL 10%APS 和 40 uL 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。 8. 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。 9. 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。 10. 拔出梳子，用 1×SDS-PAGE 电泳液冲洗加样孔。本产品提供 20 升的 SDS-PAGE 电泳液干粉，将所有干粉溶解在 2L 去离子水中即得 10×SDS-PAGE 电泳液（测 pH 应该在 8.3，如果不是 8.3 务必用 NaOH 或 HCl 调到 8.3），用时再用去离子水稀释成 1×工作液。 11. 将凝胶板固定在电泳装置上，往上下槽加入足够的 1×SDS-PAGE 电泳液。 12. 在待电泳的蛋白质样品中加入 5×SDS-PAGE 上样液(4uL 样品中加 1uL 上样液)，100℃煮沸 3-5 分钟。短暂离心，取上清上样。 13. 先用 10 mA 的电流电泳（对 0.75 mm 厚×14 cm×14 cm 的胶)直到染料进入从浓缩胶进入分离胶。 14. 将电流增加到 15 mA，直到染料进入分离胶底部时终止电泳，取出凝胶进行后续的染色等实验处理。
关联产品	改良 Bradford 法蛋白浓度测定试剂盒（直接测 SDS-PAGE 上样液中的蛋白）