

## SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒

货号：HKW2028

### 【产品信息】

产品名称	产品货号	规格	有效期
SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒	HKW2028	>50 块胶	一年

### 【产品简介】

本产品 SDS-PAGE 凝胶快速制备试剂盒，包含凝胶制备所需的所有试剂，用户只需准备少量纯水及制胶设备（制胶底座、玻璃板、梳子等），根据说明书操作即可在短时间内制得所需凝胶。本试剂盒可制备常规大小凝胶至少 50 块。

### 【试剂组成】

货号	品名	规格
HKW2028-1	30% 丙烯酰胺 (29:1)	100 mL
HKW2028-2	4×Tris-SDS 分离胶缓冲液	100 mL
HKW2028-3	4×Tris-SDS 浓缩胶缓冲液	30 mL
HKW2028-4	TEMED	500 $\mu$ L
HKW2028-5	改良型促凝剂 1 mL×5	1 mL×5

### 【储存与运输】

冰袋 (wet ice) 运输；改良型促凝剂-20℃保存，其他 2-8℃避光保存，一年有效。

### 【使用方法】

常规染色脱色方法：

1. 电泳结束后，取出聚丙烯酰胺凝胶放入适量的考马斯亮蓝染液 R250 中，以染液刚好覆盖凝胶为宜。

SDS-PAGE 分离胶浓度	最佳分离范围 (kDa) ( Tris-Glycine 电泳缓冲液, )	最佳分离范围 (kDa) ( 高分辨电泳缓冲液, )
6%	50-300	15-300
8%	30-130	10-250
10%	20-100	5-150
12%	10-60	3-100
15%	<40	<60

2. 根据目标蛋白分子量大小, 选取分离胶的浓度, 以常用规格 8.3 cm×7.3 cm 凝胶板 (单块) 为例, 可参考下表配制制胶液:

分离胶浓度	6%			8%			10%			12%			15%		
玻璃板厚度 (mm)	0.75	1.0	1.5	0.75	1.0	1.5	0.75	1.0	1.5	0.75	1.0	1.5	0.75	1.0	1.5
所需制胶液总体积 (mL)	4.0	6.0	8.0	4.0	6.0	8.0	4.0	6.0	8.0	4.0	6.0	8.0	4.0	6.0	8.0
H <sub>2</sub> O (mL)	2.12	3.18	4.24	1.85	2.78	3.7	1.59	2.38	3.17	1.32	1.98	2.64	0.92	1.38	1.84
30%丙烯酰胺 (29:1) (mL)	0.8	1.2	1.6	1.07	1.6	2.14	1.33	2.0	2.67	1.6	2.4	3.2	2.0	3.0	4.0
1.5 M Tris-HCl (pH 8.8) (mL)	1.0	1.5	2.0	1.0	1.5	2.0	1.0	1.5	2.0	1.0	1.5	2.0	1.0	1.5	2.0
10% SDS (μL)	40	60	80	40	60	80	40	60	80	40	60	80	40	60	80
改良型促凝剂 (μL)	24	36	48	24	36	48	24	36	48	24	36	48	24	36	48
TEMED (μL)	2.0	3.0	4.0	2.0	3.0	4.0	2.0	3.0	4.0	2.0	3.0	4.0	2.0	3.0	4.0

\*制胶液总体积不包含 TEMED 的体积。

3. 浓缩胶配制可参考下表:

浓缩胶浓度(%)	5%			
H <sub>2</sub> O/mL	1.93	2.95	3.86	5.79
30%丙烯酰胺 (29:1) /mL	0.5	0.75	1.0	1.5
1.0M Tris-HCl (pH 6.8) /mL	0.5	0.75	1.0	1.5
10%SDS/μL	40	60	80	120
改良型促凝剂/μL	18	27	36	54
TEMED/μL	4.0	6.0	8.0	12.0
总体积 /mL	3.0	4.5	6.0	9.0

\*总体积不包含 TEMED 的体积。

4. 推荐电泳条件:

a. 使用 高分辨电泳缓冲液进行电泳: 200-250 V 恒压, 25-35 min 可完成电泳;

b. 使用 Tris-Glycine 电泳缓冲液进行电泳：设置电压上层胶 90 V，电泳约 30 min (marker 进入分离胶)；下层胶调整电压为 150-180 V，约 60-90 min(可根据实际情况调整)。

### 【注意事项】

- 1) 所有试剂使用前需要提前复温至室温后方可使用。
- 2) 改良型促凝剂相较于过硫酸铵 (AP) 稳定性更好，使用时拿出一支，使用结束后于 4℃ 保存，以便后续常规使用，可保存六个月；若长期不用请放置于 -20℃ 保存，避免反复冻融。
- 3) 小于 10 kDa 的蛋白分离建议使用 Tricine 胶，丙烯酰胺凝胶可能不足以分离。
- 4) 温度对于胶的凝固时间影响较大，为保证实验顺利进行，一般温度越低，凝固时间越长，可适当增加改良型促凝剂用量；温度越高凝胶越快，可适当减少改良型促凝剂用量。
- 5) 凝胶需要充分的凝固时间，建议胶制好充分静置确保凝胶彻底。
- 6) 当温度较低时，分离胶缓冲液与浓缩胶缓冲液因含有 SDS 溶液会呈现结晶析出，可以于 37℃ 复温融化后使用。
- 7) 操作时请穿实验服，佩戴一次性手套。