

## 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)<br>( Tris-Glycine 电泳缓冲液, ) | 最佳分离范围 (kDa)<br>( 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。