

SDS-PAGE 制胶试剂盒（固定浓度分离胶） 使用说明书

储存条件：2-8 °C，有效期 1 年。

产品货号及品名：

产品货号	产品名称	规格
SK60106	6% SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒	125 T
SK60108	8% SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒	125 T
SK60110	10% SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒	125 T
SK60112	12% SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒	125 T
SK60115	15% SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒	125 T

注：0.75mm 厚 mini 胶可制 125 块；1.00mm 厚胶可制 90 块；1.50mm 厚胶可制 60 块。

产品组成：

产品成分	包装规格	数量（瓶）
浓缩胶制胶液（5%）	62.5 mL	2
分离胶制胶液（x%）	125 mL	4
10% APS（干粉）	1 mL	8
说明书		1

注意:

1. 过硫酸铵 (APS) 为结晶性粉末, 2-8 °C 储存, 使用前每支加入 1 mL 蒸馏水即为 10% APS 溶液, 现配现用最佳, 溶液用后 -20 °C 可储存 2 个月。APS 如出现严重结块, 即已变质。
2. 本试剂盒制胶液无需添加 TEMED。如需加快成胶, 也可按 1% 补加 TEMED (本试剂盒不提供)。

产品简介:

Coolaber 出品的系列固定浓度 SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒, 仅包含 APS, 5% 浓缩胶制胶液, 及单一浓度的分离胶制胶液三种试剂。APS 为固体粉末形态, 且为小包装多支, 便于储存和配制; 分离胶及浓缩胶制备仅需相应的制胶液与 10% APS 溶液按 100:1 混合, 依次注入制胶模具成胶即可, 无需自备试剂, 尤其是无需添加 TEMED, 既安全环保, 又便于快速制胶; 浓缩胶制胶液内已加入红色染料, 便于准确上样, 且实验证明该染料对电泳及后续实验无不良影响。但请注意该系列制胶试剂盒只可用于单一分离胶浓度 SDS-PAGE 胶的制备, 请根据“产品货号及品名”选择相应货号产品。如需小量制备多种浓度分离胶请选购 SK6010 产品。

操作步骤: (以 0.75mm 厚 mini 胶为例)

一、灌制分离胶

1. 参照制胶模具说明, 装配好模具。
2. 取分离胶制胶液 4 mL, 按 1% 加入 40 μ L 10% APS 溶液, 吹打混匀, 避免产生气泡。
3. 注入模具 (留少许以判断凝胶状态), 通过抽真空或者吸水滤纸去除气泡, 凝胶混合液加至距前玻璃板顶端约 1.5 cm 或距梳齿 0.5 cm, 轻轻加入 1 mL 水覆盖封胶, 使分离胶表面保持平整。
4. 静置 30-60 分钟, 待分离胶和水层之间出现一个清晰的界面后, 表明凝胶已聚合。

二、灌制浓缩胶

1. 倒掉分离胶上的水层。

2. 取浓缩胶制胶液 1 mL，按 1%加入 10 μ L 10% APS 溶液，吹打混匀，避免产生气泡。
3. 注入模具的分离胶的上面（留少许以判断凝胶状态），通过抽真空或者吸水滤纸去除气泡，至前玻璃板的顶端。
4. 插入梳子，避免产生气泡。
5. 静置 30-60 分钟，待上层凝胶聚合后，小心地拔出梳子，避免破坏加样孔。
6. 进行常规电泳操作。使用 Tris 甘氨酸电泳液建议电泳条件：初始电压 80V，约 30 分钟，样品进入分离胶后，电压调至 120V，约 1 小时，样品抵达凝胶底部停止电泳。

注意事项：

1. APS 溶液常温不稳定，取用后立即放回-20 $^{\circ}$ C 冰箱；若发现凝胶时间延长，应更换 APS 溶液。
2. PAGE 凝胶的凝聚速度受温度影响，室温较低时，可以增加 50%-100%的 APS 使用量。
3. 在凝胶配制过程中，尤其是液体混匀步骤，应尽量避免气泡的产生。
4. 在分离胶上层加蒸馏水时要小心操作，加水时速度不能太快。
5. 丙烯酰胺具有神经毒性，操作时请穿戴实验服和一次性手套。

附表 1. SDS-PAGE 分离胶的浓度与最佳分离范围：

SDS-PAGE 分离胶浓度	分离范围
6%	50-150 kD
8%	30-90 kD
10%	20-80 kD
12%	12-60 kD
15%	10-40 kD

附表 2.常见问题与解决建议:

常见问题	建议
成胶速度慢或不成胶	增加 50-100%的 APS 用量，还不成胶需更换 APS。
浓缩胶与分离胶界面不齐	注入分离胶后需封胶，或检查模具是否漏液。
条带拖尾或有竖纹	蛋白样品需离心去除不溶物或透析除盐。
条带呈笑脸型	延长凝胶时间或适当降低电泳电压。
条带横向扩散	减少上样量。