

## SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒 使用说明书

产品编号: SK6010

储存条件: Acr-Bis 溶液 2-8 °C 储存, 其它常温储存。有效期 1 年。

产品组成:

| Components         | SK6010-50 | SK6010-250 | 保存条件    |
|--------------------|-----------|------------|---------|
| 30% Acr-Bis (29:1) | 100 mL    | 500 mL     | 2-8 °C  |
| 分离胶缓冲液             | 100 mL    | 500 mL     | RT      |
| 浓缩胶缓冲液             | 50 mL     | 250 mL     | RT      |
| APS (过硫酸铵)         | 0.1 g×5   | 0.1 g×25   | RT      |
| TEMED              | 1 mL      | 3 mL×2     | RT & 避光 |
| 说明书                | 1 份       |            |         |

**注意:** 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。

产品介绍:

本产品包括 SDS-PAGE 凝胶制备所需全部试剂, 只需自备蒸馏水, 即可制备各种浓度的变性 PAGE 凝胶, 方便、快捷、安全、实惠。本试剂盒在分离胶缓冲液和浓缩胶缓冲液中均已加入 SDS, 使用时无需额外加入, 分离胶缓冲液、浓缩胶缓冲液放置 2-8 °C 可能出现絮状, 为 SDS 析出, 常温放置一会溶液恢复澄清后继续使用。因为制备凝胶浓度不同, 本品只给出规格仅为大概制胶数量。如需购买固定胶浓度的试剂盒请选择 SK60106/08/10/12/15 等货号产品。

操作步骤: (以 0.75mm 厚 mini 胶为例)

### 一、灌制分离胶

1. 参照凝胶模具说明书, 装配好模具。
2. 取相应体积的 30% Acr-Bis (29:1)、分离胶缓冲液和双蒸水 (参照表 1) 在小烧杯或试管中混合。

3. 加入 10% APS 溶液和 TEMED，轻轻搅拌使其混匀，避免产生气泡。
4. 注入模具（留少许以判断凝胶状态），避免产生气泡，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。
5. 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，表面凝胶已聚合。

## 二、灌制浓缩胶

1. 倒掉覆盖在分离胶上的水层。
2. 将相应体积的 30% Acr-Bis (29:1)、浓缩胶缓冲液和双蒸水（参照表 2）在一个小烧杯或试管中混合。
3. 加入 10% APS 和 TEMED，轻轻搅拌使其混匀，避免产生气泡。
4. 将浓缩胶溶液加至分离胶的上面（留少许以判断凝胶状态），避免产生气泡，直至前玻璃板的顶端。
5. 将梳子插入凝胶内，避免产生气泡。
6. 静置 10~20 分钟，待凝胶聚合后，小心地拔出梳子，避免破坏加样孔。
7. 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 °C 冰箱；若发现凝胶时间延长，应更换 APS 溶液。
2. PAGE 凝胶的凝聚速度与温度以及 APS、TEMED 的用量密切相关；可通过增加 50%-100% 的 APS 及 TEMED 的用量，加快 PAGE 凝胶的聚合速度，但凝胶聚合过快不利于操作。
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. 配制 5 mL SDS-PAGE 分离胶（组份体积单位 mL）：

| 胶浓度 | 双蒸水 | 30% Acr-Bis (29:1) | 分离胶缓冲液 (4×) | 10%APS | TEMED |
|-----|-----|--------------------|-------------|--------|-------|
|-----|-----|--------------------|-------------|--------|-------|

|     |      |      |      |      |       |
|-----|------|------|------|------|-------|
| 6%  | 2.75 | 1.0  | 1.25 | 0.05 | 0.004 |
| 8%  | 2.42 | 1.33 | 1.25 | 0.05 | 0.003 |
| 10% | 2.08 | 1.67 | 1.25 | 0.05 | 0.002 |
| 12% | 1.75 | 2.0  | 1.25 | 0.05 | 0.002 |
| 15% | 1.25 | 2.5  | 1.25 | 0.05 | 0.002 |

附表2. 配制2 mL SDS-PAGE浓缩胶（组份体积单位mL）:

| 胶浓度 | 双蒸水  | 30%Acr-Bis(29:1) | 浓缩胶缓冲液（4×） | 10%APS | TEMED |
|-----|------|------------------|------------|--------|-------|
| 5%  | 1.14 | 0.34             | 0.5        | 0.02   | 0.002 |

附表3. 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4.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。                          |