

SDS-PAGE 凝胶试剂盒

产品简介：

聚丙烯酰胺凝胶（SDS-PAGE 凝胶）在生物学实验中被广泛应用，主要用来分离和鉴定不同分子量大小的蛋白质；应用最为普遍的方式是浓缩胶加上分离胶，前者起到将蛋白样品进行浓缩的作用，后者则是对蛋白质样品进行分离。

由于受到试剂来源、纯度以及配制方法等因素制约和影响，SDS-PAGE 过程中常常出现意想不到的问题，而短时间内又无法找到原因，不但如此，繁琐的制胶过程浪费了科研人员大量的精力和时间。

不同浓度 SDS-PAGE 分离胶参考分离范围

SDS-PAGE 分离胶浓度	分离范围
6%凝胶	60-200 kD
8%凝胶	40-100 kD
10%凝胶	20-70 kD
12%凝胶	15-60 kD
15%凝胶	10-40kD

鉴于以上原因，ANTBDY 研发的 SDS-PAGE 试剂盒，采用独特工艺配方，将分离胶和浓缩胶制成预混液，使用时只需要将凝胶预混液与缓冲液等体积混合并加入少量催化剂混匀后即可灌胶。

主要组分：

名称	组分	体积
A 液	分离胶缓冲液	125ml
B 液	分离胶胶液	125ml
C 液	浓缩胶预混液	100ml
D 液	促凝剂	3.6ml
说明书一份		

储存条件：4℃，6 个月。

使用说明：（以配制一块 1.0mm 的 mini 胶为例）

- 1) 取等体积 A 液和 B 液（两种溶液各取 2.5 ml）混匀；加入 50ul D 液，充分混匀。
- 2) 将步骤 1 中的溶液注入制胶玻璃板中，加入适量水或乙醇等覆盖于分离胶之上，室温静置 15min（如果温度太低可以放在 37℃温箱）。
- 3) 待凝胶（分离胶）充分聚合（水与胶之间出现一条折射线）后，倒去上层水或醇，并用滤纸吸干。
- 4) 取适量 C 液，一般 1.5~2ml，加入 20ul D 液，充分混匀。
- 5) 将步骤 4 中的溶液注入制胶玻璃板中分离胶之上，插入梳齿，室温静置 15min（如果温度太低可以放在 37℃温箱）。
- 6) 待凝胶（浓缩胶）聚合后，拔去梳齿即可用于电泳。

注：请尽量使用新鲜配置的电泳缓冲液。

5.注意事项：

- 1) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 2) 胶的凝固与温度有显著的正相关性。同等条件下，温度越高，凝固速度越快。如需快速制备凝胶可将其置于 37℃
- 3) 使用水封分离胶的时候，加水速度要缓慢。

4) 插梳子时, 从一侧斜向插入, 而非水平向插入, 可有效避免气泡。

5) 搅拌和加液时应注意避免产生气泡。

本凝胶试剂盒可以配制试剂盒标注浓度及低于标注浓度的凝胶 (比如, 10%浓度的试剂盒, 可以配制 10%, 8%, 6%浓度的凝胶)。配制本试剂盒标注浓度时候最为简单, 只需要将 A,B 液等体积混匀, 加上催化剂后即可灌胶。配制其他浓度的凝胶首先需要将分离胶液用去离子水稀释到相应浓度 (见下表稀释方法), 再等体积与 A 液 (分离胶缓冲液) 混合, 加入催化剂后灌胶。

高浓度向低浓度稀释方案 (体积 ml)

		待稀释凝胶							
		15%分离胶-B 液		12%分离胶-B 液		10%胶分离-B 液		8%分离胶-B 液	
		胶液体 积	补水体 积	胶液体 积	补水体 积	胶液体 积	补水体 积	胶液体 积	补水体 积
预配制 SDS- PAGE 胶浓度	12%分离胶-B 液	2	0.5						
	10%分离胶-B 液	1.67	0.83	2.08	0.42				
	8%分离胶-B 液	1.33	1.17	1.66	0.84	1.99	0.51		
	6%分离胶-B 液	1	1.5	1.25	1.25	1.49	1.01	1.87	0.63

*以配制 5ml 分离胶为例 : 10%分离胶向 8%分离胶稀释时, 取 10%分离胶-B 液 1.99ml, 加水 0.51ml, 以此取代步骤一中的 8%分离胶-B 液 2.5ml (以上为精确体积, 可保留小数点后 1 位或 2 位)

***本试剂仅供实验室研究使用**

附表. SDS-PAGE 常见问题与原因分析

出现的问题	原因分析	改进建议
跑出 “微笑” 条带	跑胶时温度过高	适当降低电压, 或在外槽放置冰袋
跑出 “皱眉” 条带	凝胶中有气泡	试剂平衡到室温后再配胶
条带出现拖尾纹理	样品溶解不佳	离心取上清点样
	上样缓冲液中的还原剂被氧化	更换 Loading Buffer
出现 “鬼带”	大分子聚合, 还原剂被氧化	在样品加热后添加 DTT 或β-巯基乙醇等
条带很粗	未浓缩好	保证浓缩胶高度, 或降低起始电压, 推荐 80v 浓缩胶, 120V 分离胶