

## 一步法凝胶制备试剂盒(15%)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

### 产品简介：

聚丙烯酰胺凝胶电泳(Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS~PAGE) 其原理在于聚丙烯酰胺凝胶为网状结构，具有分子筛效应。它有两种形式：非变性聚丙烯酰胺凝胶及 SDS~聚丙烯酰胺凝胶(SDS~PAGE)；非变性聚丙烯酰胺凝胶蛋白质能够保持完整状态，并依据蛋白质的分子量大小、蛋白质的形状及其所附带的电荷量而逐渐呈梯度分开，主要用于分离蛋白质和寡核苷酸。

一步法凝胶制备试剂盒(15%)经改良优化，把所需的 Tris-HCl、丙烯酰胺、SDS 等预混于分离胶缓冲液(下层胶)和浓缩胶缓冲液(上层胶)中，可直接配制 15%的分离胶和 5%的浓缩胶溶液，使用前按比例加入过硫酸铵和 TEMED 灌入玻璃板，操作简单。利用本试剂盒配置的预制胶，可高效兼容传统的电泳液及转膜液。10T 一般可以配制 10 块，具体配制的量应根据器具大小决定。15%的分离胶最佳分离范围是 10~40kD。

### 产品组成：

| 产品名称               | 规格    | 保存条件  | 说明书 | 有效期 |
|--------------------|-------|-------|-----|-----|
| 一步法凝胶制备试剂盒(15%)    | 50T   | 4℃ 避光 | 1 份 | 1 年 |
| 试剂(A): 下层胶预混液(15%) | 250ml | 4℃ 避光 | 1 份 | 1 年 |
| 试剂(B): 上层胶预混液      | 120ml | 4℃ 避光 | 1 份 | 1 年 |
| 试剂(C): APS         | 0.5g  | RT    | 1 份 | 1 年 |
| 试剂(D): TEMED       | 1ml   | 4℃ 避光 | 1 份 | 1 年 |

### 自备材料：

- 1、垂直电泳装置
- 2、移液器

### 操作步骤(仅供参考)：

- 1、配制 10%过硫酸铵：直接在 0.5g APS 中加入 5ml 蒸馏水，充分溶解，分装成小份储存于-20℃或 4℃。注意：一般用 1.5ml EP 管分装成 0.5~1ml 每支，每支使用 2~3 次即弃用。-20℃保存，通常半年内有效，4℃保存，1 周有效。
- 2、将玻璃板固定好，并确定不会漏液，按照下表配制 15%的分离胶(下层胶)：对于普通的配胶器，一般按 10ml 体积配制即可，取适量的混匀分离胶缓冲液倒入玻璃板中，加入 1ml 左右的蒸馏水以压平液面。

**注意：过硫酸铵和 TEMED 严格按照推荐量加入，且应充分混匀。**

| 成分      | 配制不同体积 SDS-PAGE 分离胶所需各成分的体积(ml) |       |       |       |       |       |      |
|---------|---------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|------|
| 下层胶预混液  | 5                               | 10    | 15    | 20    | 30    | 40    | 50   |
| 10%过硫酸铵 | 0.05                            | 0.1   | 0.15  | 0.2   | 0.3   | 0.4   | 0.5  |
| TEMED   | 0.002                           | 0.004 | 0.006 | 0.008 | 0.012 | 0.016 | 0.02 |

3、按照下表配制 5%的浓缩胶(上层胶): 对于普通的配胶器, 一般按 3ml 体积配制即可, 倒出蒸馏水, 取适量的混匀浓缩胶缓冲液倒入玻璃板中。注意: 过硫酸铵和 TEMED 严格按照推荐量加入, 且应充分混匀。

| 成分      | 配制不同体积 SDS-PAGE 浓缩胶所需各成分的体积(ml) |       |       |       |       |      |
|---------|---------------------------------|-------|-------|-------|-------|------|
| 上层胶预混液  | 2                               | 3     | 4     | 6     | 8     | 10   |
| 10%过硫酸铵 | 0.02                            | 0.03  | 0.04  | 0.06  | 0.08  | 0.1  |
| TEMED   | 0.002                           | 0.003 | 0.004 | 0.006 | 0.008 | 0.01 |

4、缓缓插入梳子, 为确保分离胶液~浓缩胶界面更加整齐, 插入梳子后可轻轻抬起制胶架的一端然后轻轻放下, 使缓冲液有个缓慢的移动, 从而界面更加整齐。

5、室温放置 30min 直至胶凝固, 也可以将制备好的胶连同玻璃板和梳子, 装入到自封袋、PE 手套或其他致密性较好的塑料膜, 加入 2~3ml 蒸馏水, 并用封口机封口, 此凝胶可在 4 ° C 避光保存 3~6 个月。

6、电泳: 静置, 待凝胶聚合后, 小心地拔出梳子, 避免破坏加样孔; 加入 Tris-甘氨酸电泳缓冲液(含 15~20%甲醇): 将待测蛋白与蛋白上样缓冲液混合, 煮沸 5~10min 后加入样品孔; 将电泳槽置于 4°C或冰水浴中电泳, 进行后续的考马斯亮蓝染色或电转。

#### 注意事项:

- 1、下层胶预混液和上层胶预混液中含有 Acr~Bis, 对人体有毒, 操作时请特别小心, 并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
- 2、过硫酸铵配制成 10%溶液后应当-20°C保存, 应尽量减少室温存放时间以防失效。有效避免失效的方法是分成小份, -20°C保存, 用 2~3 次, 剩余的弃用, 亦可 4°C保存几天。
- 3、TEMED 易挥发, 使用后请盖紧瓶盖。另外凝胶凝聚的速度和温度及光照关系密切, 可通过适当调节 TEMED 的用量, 控制在不同的室内环境下凝胶凝聚的速度。
- 4、冬天室温较低时, 可以自行额外添加少量 TEMED 以促进凝胶凝固; 室温在 20°C 以上时通常不需要再额外添加 TEMED。室温较低, 可以置于 37°C放置, 加速凝固。
- 5、TEMED 易燃, 有腐蚀性, 操作时请小心, 并注意有效防护以避免直接接触人体或腐蚀其他物品。
- 6、配好的凝胶如果当天不能使用, 可在 4°C 保存 1~2 天。
- 7、本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 8、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

附录 A: 不同浓度的 SDS-PAGE 分离胶的最佳分离范围:

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

相关产品:

|                                    |
|------------------------------------|
| TEA-Tricine-SDS 电泳缓冲液 (20×, pH8.3) |
| TEA-Tricine-SDS 电泳粉剂 (1×)          |
| SDS-PAGE 下层胶预混液 (6%)               |
| SDS-PAGE 浓缩胶缓冲液 (4×, pH6.8)        |