

天
净
沙
系
列

CAT#:80810-30

常温运输和保存, TEMED 和上样液
需要低温运输

TIANDZ

一站式 SDS-PAGE 电泳套装

One-Stop SDS-PAGE Pack

使用手册 V2.2

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

<p>产品及特点</p>	<p>SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)是目前电泳法变性分离蛋白质的主要方法,但是单独配制各种溶液十分繁琐,为此天泽基因开发了本产品。它具有下列特点:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 一站式,即开即用,用户不需单独准备各种成分,十分方便。 2. 安全,将实验人员接触粉末状丙烯酰胺的可能降到最低。 3. 灵活,分开提供的丙烯酰胺和甲叉双丙烯酰胺便于配制各种比例和浓度的 SDS-PAGE,满足分离各种大小不同的蛋白质的要求。 4. 使用改良的浓缩胶缓冲液,由于其含有染料,制备的浓缩胶呈蓝色,便于上样时识别加样孔。 5. 电泳后可直接用于考染、银染、Western 杂交等实验。 																																							
<p>规格及成分</p>	<table border="1" data-bbox="443 745 1407 1447"> <thead> <tr> <th data-bbox="443 745 879 875">成份</th> <th data-bbox="879 745 1043 875">编号</th> <th data-bbox="1043 745 1273 875">大纸盒包装</th> <th data-bbox="1273 745 1407 875">保存温度</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="443 875 879 1003">丙烯酰胺/甲叉双丙烯酰胺 干粉(19:1)</td> <td data-bbox="879 875 1043 1003">80810a</td> <td data-bbox="1043 875 1273 1003">250mL 棕色玻 璃 (60 g/3g)</td> <td data-bbox="1273 875 1407 1003">RT</td> </tr> <tr> <td data-bbox="443 1003 879 1061">分离胶缓冲液, 4×</td> <td data-bbox="879 1003 1043 1061">100868</td> <td data-bbox="1043 1003 1273 1061">200 mL</td> <td data-bbox="1273 1003 1407 1061">RT</td> </tr> <tr> <td data-bbox="443 1061 879 1120">浓缩胶缓冲液, 4× (含染料)</td> <td data-bbox="879 1061 1043 1120">100867</td> <td data-bbox="1043 1061 1273 1120">100 mL</td> <td data-bbox="1273 1061 1407 1120">RT</td> </tr> <tr> <td data-bbox="443 1120 879 1178">TEMED</td> <td data-bbox="879 1120 1043 1178">100880</td> <td data-bbox="1043 1120 1273 1178">1.5 mL</td> <td data-bbox="1273 1120 1407 1178">4℃</td> </tr> <tr> <td data-bbox="443 1178 879 1236">过硫酸铵 (干粉)</td> <td data-bbox="879 1178 1043 1236">100879</td> <td data-bbox="1043 1178 1273 1236">1 g</td> <td data-bbox="1273 1178 1407 1236">RT</td> </tr> <tr> <td data-bbox="443 1236 879 1294">SDS-PAGE 上样液, 5×</td> <td data-bbox="879 1236 1043 1294">81204</td> <td data-bbox="1043 1236 1273 1294">1 套 (1 mL)</td> <td data-bbox="1273 1236 1407 1294">-20℃</td> </tr> <tr> <td data-bbox="443 1294 879 1352">SDS-PAGE 电泳液 (干粉)</td> <td data-bbox="879 1294 1043 1352">81203</td> <td data-bbox="1043 1294 1273 1352">1 套 (20 L)</td> <td data-bbox="1273 1294 1407 1352">RT</td> </tr> <tr> <td data-bbox="443 1352 879 1447">使用手册</td> <td data-bbox="879 1352 1043 1447">80810sc</td> <td data-bbox="1043 1352 1273 1447">1 份</td> <td data-bbox="1273 1352 1407 1447">RT</td> </tr> </tbody> </table>				成份	编号	大纸盒包装	保存温度	丙烯酰胺/甲叉双丙烯酰胺 干粉(19:1)	80810a	250mL 棕色玻 璃 (60 g/3g)	RT	分离胶缓冲液, 4×	100868	200 mL	RT	浓缩胶缓冲液, 4× (含染料)	100867	100 mL	RT	TEMED	100880	1.5 mL	4℃	过硫酸铵 (干粉)	100879	1 g	RT	SDS-PAGE 上样液, 5×	81204	1 套 (1 mL)	-20℃	SDS-PAGE 电泳液 (干粉)	81203	1 套 (20 L)	RT	使用手册	80810sc	1 份	RT
成份	编号	大纸盒包装	保存温度																																					
丙烯酰胺/甲叉双丙烯酰胺 干粉(19:1)	80810a	250mL 棕色玻 璃 (60 g/3g)	RT																																					
分离胶缓冲液, 4×	100868	200 mL	RT																																					
浓缩胶缓冲液, 4× (含染料)	100867	100 mL	RT																																					
TEMED	100880	1.5 mL	4℃																																					
过硫酸铵 (干粉)	100879	1 g	RT																																					
SDS-PAGE 上样液, 5×	81204	1 套 (1 mL)	-20℃																																					
SDS-PAGE 电泳液 (干粉)	81203	1 套 (20 L)	RT																																					
使用手册	80810sc	1 份	RT																																					
<p>运输及保存</p>	<p>常温运输和保存,但 TEMED 和 5×SDS-PAGE 上样液需低温运输,分别在 4℃ 和 -20℃ 有效期一年。</p>																																							
<p>自备试剂</p>	<p>去离子水</p>																																							
<p>使用方法</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 第一次使用本产品时需先配制 30%丙烯酰胺-甲叉双丙烯酰胺 (19:1) 溶液(30% AB 溶液,下同):在本产品提供的装有 60 克丙烯酰胺/3g 甲叉双丙烯酰胺干粉的瓶中加入 146 mL 自备的去离子水,充分摇晃 10-20 分钟即得 200 mL 30%丙烯酰胺/甲叉双丙烯酰胺 (19:1) 溶液 (以下简称 30%AB 溶液)。丙烯酰胺与甲叉双丙烯酰胺比例在 19:1 时, PAGE 胶的孔径最小,分辨率最高。配好的 30% A B 溶液最好 4℃ 避光保存并在 1 月内用完。 2. 根据平板的面积和胶的厚度估计需要配制的浓缩胶和分离胶的体积。并根据 																																							

据要分离的蛋白质的大小确定选择浓缩胶和分离胶的浓度，参考下表：

蛋白质大小范围 (kD)	最佳浓缩胶浓度	最佳分离胶浓度
15-45	4%	15%
15-60	4%	12.5%
18-75	4%	10%
30-120	4%	7.5%
60-200	不需要	5%

注：如果上样体积少于 10 μ L，可以不需要浓缩胶。

3. **配制 10%的 APS (过硫酸铵)**：称 0.1 克过 APS 干粉到 1 mL 去离子水中，摇晃溶解。配制好的 10%的 APS 溶液可以在 4 $^{\circ}$ C 存放一周。
4. **配制分离胶**：在一个 25 mL 的三角瓶中，先按下表的用量加入水、30%的 AB 溶液和 4 \times 分离胶缓冲液。以下是配制 10 mL 胶的用量，更大体积则各成分用量需按比例增加。丙烯酰胺溶液有神经毒性，一定要戴手套操作。

分离胶 浓度	用量 (单位: mL)		
	水	30%AB 溶液	4 \times 分离胶配胶液
5%	5.83	1.67	2.50
6%	5.50	2.00	2.50
7%	5.17	2.33	2.50
7.5%	5.00	2.50	2.50
8%	4.83	2.67	2.50
9%	4.50	3.00	2.50
10%	4.17	3.33	2.50
11%	3.83	3.67	2.50
12%	3.50	4.00	2.50
13%	3.17	4.33	2.50
14%	2.83	4.67	2.50
15%	2.50	5.00	2.50
16%	2.17	5.33	2.50

5. **配制浓缩胶 (一般使用 4%的浓度)**：在一个 25 mL 的三角瓶中，先按下表的用量加入水、30% A B 溶液和 4 \times 浓缩胶缓冲液。以下是配制 10 mL 4%浓缩胶的用量，丙烯酰胺溶液具有神经毒性，一定要戴手套操作。

	浓缩胶 浓度	用量 (单位: mL)		
		水	30%AB 溶液	4×浓缩胶缓冲液 (含蓝色染料)
	4%	6.17	1.33	2.50

6. 将分离胶和浓缩胶溶液摇晃混匀, 抽真空 10-15 分钟以去除溶液中的氧气 (氧气能抑制丙烯酰胺聚合反应, 不除去将影响丙烯酰胺聚合反应)。
7. 分别加入 50 uL 10%APS 和 30-50 uL TEMED (这是配制 10 mL 分离胶和浓缩胶的用量, 更大体积的胶则用量需按比例增加), 迅速摇匀。
8. 先灌分离胶, 在胶的液面距离顶部 1.5 cm 的时候, 停止灌胶。
9. 由于分离胶比重较大, 可以立即在上面灌浓缩胶, 但灌注时必须小心, 不要破坏分离胶和浓缩胶的液面, 在浓缩胶液面达到顶部时停止灌胶, 插入梳子, 室温聚合 30-60 分钟。如果不能做到小心灌浓缩胶, 则必须待分离胶室温聚合 30-60 分钟后再灌制。
10. 拔出梳子, 用 1×SDS-PAGE 电泳液冲洗加样孔。
11. 将凝胶板固定在电泳装置上, 往上槽和下槽加入足够的 1×SDS-PAGE 电泳液。本产品提供 20 升的 SDS-PAGE 电泳液干粉, 将所有干粉溶解在 2 L 水中即得 10×SDS-PAGE 电泳液 (测 pH 应该在 8.3, 如果不是 8.3 请用 NaOH 或 HCl 调到 8.3), 用时再稀释成 1×工作液。
12. 在蛋白质样品中加入 5×SDS-PAGE 上样液 (4uL 样品中加 1uL 上样液), 100°C 煮沸 3-5 分钟。短暂离心, 取上清上样。
13. 先用 10 mA 的电流电泳 (对 0.75 mm 厚×14 cm×14 cm 的胶) 直到染料进入从浓缩胶进入分离胶。
14. 将电流增加到 15 mA, 直到染料进入分离胶底部时终止电泳, 取出凝胶进行后续的实验处理。

关联产品	快速蛋白银染试剂 (CAT#: 100602)
-------------	-------------------------