

# 蛋白质系列

CAT#:100908A-30 (大于 30KD)  
CAT#:100908B-30 (2-30KD)  
常温运输和保存(上样液需-20℃保存)

The logo for TIANDZ, consisting of the word "TIANDZ" in white, bold, uppercase letters on a red rectangular background.

## 一站式长效期 SDS-PAGE 电泳套装 One-Stop Stable SDS-PAGE Pack

---

使用手册 V1.0

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](http://www.tiandz.com); 电话: 400-6765278; 电邮: [order@tiandz.com](mailto:order@tiandz.com)

<p><b>产品及特点</b></p>	<p>本产品是在 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)套装基础上改良而得，主要改良的地方有两处：一是配胶液的 pH 偏酸，二是将还原剂加入到电泳液中。这些改良使本产品具有下列特点：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 偏酸的 pH 使 PAGE 胶比常规 SDS-PAGE 更加稳定，便于配预制胶，增加实验的可重复性。</li> <li>2. 能降低蛋白质的脱氨反应和烷基化反应，也能阻止蛋白质的二硫键再生成。</li> <li>3. 把还原剂整合到电泳液中，避免了蛋白质在电泳过程中重新形成二硫键，蛋白条带比常规 SDS-PAGE 更加锐利。</li> <li>4. 可把分离胶和浓缩胶配胶液整合成一个，成分更简单。</li> <li>5. 更换电泳液即可用于不同大小的蛋白（A 型电泳液适合 20 kD 以上蛋白，B 型适合 2-50 kD 蛋白），分离多肽时不需要 Tricine-SDS-PAGE。</li> <li>6. 即开即用，用户不需单独准备各种成分，十分方便。</li> <li>7. 安全，免去了实验人员接触粉末状的剧毒物品丙烯酰胺。</li> <li>8. 电泳后可直接用于考染、银染、Western 杂交等实验。</li> </ol>																																															
<p><b>规格及成分</b></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>编号</th> <th>30 次包装 (A 型)</th> <th>30 次包装 (B 型)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>丙烯酰胺(干粉)</td> <td>100864</td> <td>60 g</td> <td>60 g</td> </tr> <tr> <td>甲叉双丙烯酰胺(干粉)</td> <td>100877</td> <td>3 g</td> <td>3 g</td> </tr> <tr> <td>长效期 SDS-PAGE 配胶液, 4× (CAT#:100909-200)</td> <td>100909</td> <td>200 mL</td> <td>200 mL</td> </tr> <tr> <td>长效期 SDS-PAGE 还原剂 (CAT#:100910-10)</td> <td>100910</td> <td>10 mL</td> <td>10 mL</td> </tr> <tr> <td>TEMED (CAT#:100880-1.5)</td> <td>100880</td> <td>1.5 mL</td> <td>1.5 mL</td> </tr> <tr> <td>过硫酸铵 (CAT#:100879-1)</td> <td>100879</td> <td>1 g (干粉)</td> <td>1 g (干粉)</td> </tr> <tr> <td>长效 SDS-PAGE 上样液, 5× (CAT#:100911-1)</td> <td>100911</td> <td>1 mL</td> <td>1 mL</td> </tr> <tr> <td>长效期 SDS-PAGE 电泳液 A 型 (CAT#:100912A-20)</td> <td>100912A</td> <td>20 L (干粉)</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>长效期 SDS-PAGE 电泳液 B 型 (CAT#:100912B-20)</td> <td>100912B</td> <td>-</td> <td>20 L (干粉)</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>100908</td> <td>1 份</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>				成份	编号	30 次包装 (A 型)	30 次包装 (B 型)	丙烯酰胺(干粉)	100864	60 g	60 g	甲叉双丙烯酰胺(干粉)	100877	3 g	3 g	长效期 SDS-PAGE 配胶液, 4× (CAT#:100909-200)	100909	200 mL	200 mL	长效期 SDS-PAGE 还原剂 (CAT#:100910-10)	100910	10 mL	10 mL	TEMED (CAT#:100880-1.5)	100880	1.5 mL	1.5 mL	过硫酸铵 (CAT#:100879-1)	100879	1 g (干粉)	1 g (干粉)	长效 SDS-PAGE 上样液, 5× (CAT#:100911-1)	100911	1 mL	1 mL	长效期 SDS-PAGE 电泳液 A 型 (CAT#:100912A-20)	100912A	20 L (干粉)	-	长效期 SDS-PAGE 电泳液 B 型 (CAT#:100912B-20)	100912B	-	20 L (干粉)	使用手册	100908	1 份	1 份
成份	编号	30 次包装 (A 型)	30 次包装 (B 型)																																													
丙烯酰胺(干粉)	100864	60 g	60 g																																													
甲叉双丙烯酰胺(干粉)	100877	3 g	3 g																																													
长效期 SDS-PAGE 配胶液, 4× (CAT#:100909-200)	100909	200 mL	200 mL																																													
长效期 SDS-PAGE 还原剂 (CAT#:100910-10)	100910	10 mL	10 mL																																													
TEMED (CAT#:100880-1.5)	100880	1.5 mL	1.5 mL																																													
过硫酸铵 (CAT#:100879-1)	100879	1 g (干粉)	1 g (干粉)																																													
长效 SDS-PAGE 上样液, 5× (CAT#:100911-1)	100911	1 mL	1 mL																																													
长效期 SDS-PAGE 电泳液 A 型 (CAT#:100912A-20)	100912A	20 L (干粉)	-																																													
长效期 SDS-PAGE 电泳液 B 型 (CAT#:100912B-20)	100912B	-	20 L (干粉)																																													
使用手册	100908	1 份	1 份																																													
<p><b>运输及保存</b></p>	<p>常温运输和保存 (SDS-PAGE 上样液需-20℃保存)，有效期一年。</p>																																															
<p><b>自备试剂</b></p>	<p>去离子水</p>																																															
<p><b>使用方法</b></p>	<p>一：使用本产品不需要浓缩胶，直接配制分离胶。如果使用 A 型电泳液（分离 30 KD 以上蛋白质用），最好配制 10%的 PAGE 胶；如果使用 B 型电泳液（分离 2-30 KD 的蛋白质用），最好配制 12%的 PAGE 胶。也可以选择其他胶浓度，但各成分用量需要按比例调整。</p>																																															

- 第一次使用本产品时需先配制 30%丙烯酰胺溶液:在本产品提供的装有 60 克丙烯酰胺干粉的塑料瓶中加入 146 mL 自备的去离子水,充分摇晃直到溶解即得 200 mL 30%丙烯酰胺溶液(用手大约摇 10-20 分钟)。
- 第一次使用本产品时还需配制 30%丙烯酰胺-甲叉双丙烯酰胺(19:1)溶液(简称 30% AB 溶液,下同):不同实验需要加入不同比例的甲叉双丙烯酰胺。对长效期 SDS-PAGE 电泳,丙烯酰胺与甲叉双丙烯酰胺比例一般在 19:1,因为此时 PAGE 胶的孔径最小,分辨率最高。制备方法是将 3g 甲叉双丙烯酰胺干粉加入到 200 mL 上步配好的 30%丙烯酰胺溶液中,摇晃溶解即得 30% 的 AB 溶液,该溶液最好 4℃避光(可包上锡箔纸壁光)保存并在一个月内用完。30% AB 溶液具有神经毒性,一定要戴手套操作。
- 新鲜配制 10%的 APS (过硫酸铵):按每 0.1 克过硫酸铵干粉加 1 mL 去离子水的比例将去离子水加到装有硫酸铵干粉的 1.5 mL EP 管中,摇晃到粉末全部溶解。配制好的 10%的 APS 溶液可以在 4℃存放一周。
- 本产品不需要配制分离胶和浓缩胶两种胶,只需要配一种连续胶。配制方法如下(以下是以配制 10 mL 的胶的用量为例,用户自己需要根据胶的大小决定所需体积):

胶浓度	用量(单位: mL)			总体积 (mL)
	去离子水	30% AB 溶液	4×长效期 SDS-PAGE 配胶液	
10% (对 A 型)	4.20	3.30	2.50	10
12% (对 B 型)	3.50	4.00	2.50	10

- 摇晃混匀后抽真空 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,不去除的话将影响丙烯酰胺聚合反应)。
- 加入 50 uL 新配制的 10%APS 和 30 uL TEMED (这是配制 10 mL 胶的用量,配制更大体积的胶则按比例增加),迅速摇匀后倒胶。
- 在胶的液面达到顶部的时候停止灌胶并插入梳子,室温聚合 30-60 分钟(低温抑制聚合反应)。
- 拔出梳子,用水冲洗加样孔。
- 配制的 PAGE 胶可以在 4℃长期放置数月,直到使用。注意:需要盖上 1×长效期 SDS-PAGE 配胶液,否则 PAGE 胶会变干而无法使用。
- 使用时,将凝胶板固定在电泳装置上,往上槽和下槽加入足够量的 1×长效期 SDS-PAGE 电泳液(A 型或 B 型)。注意:长效期 SDS-PAGE 电泳液 A 型或 B 型均以干粉形式提供,足够配 20 L 1×电泳液。配制时需将全部干

粉(含多种没有充分混合的成分,必须一次性全部使用)溶解在去离子水中,并定容到 1 L,得到 20×长效期 SDS-PAGE 电泳液,使用时再用去离子水稀释成 1×电泳液。20×长效期 SDS-PAGE 电泳液不需要调 pH,可以室温放置。

11. 在上槽中加入适量的 1×长效期 SDS-PAGE 电泳液和 1/200 体积(以电泳液体积为基数)的长效期 SDS-PAGE 还原剂并用玻璃棒搅拌混合均匀。
12. 在蛋白质样品中加入 5×长效期 SDS-PAGE 上样液(8 uL 样品加 2 uL 上样液),72℃加热 10 分钟。注意:上液中的一些成分在低温保存时会沉淀,所以用前需要 65℃保温 10 分钟左右使沉淀溶解,混匀后才能使用。上液中的 2-巯基乙醇容易挥发,使用多次后用户可以在 10 uL 样品(蛋白质样品+上液的混合液)中补加 0.5 uL 自备的 2-巯基乙醇原液,以便使蛋白质充分变性。如果样品是蛋白质沉淀(如 TCA 沉淀得到的蛋白质),则需要用 Tris 缓冲液将其 pH 调到中性(可用 pH 试纸检测),否则残留溶剂可能会改变上液的 pH,严重影响电泳效果。
13. 短暂离心,取上清液上样。上样的蛋白总量跟检测方法相关,如果用银染,可以只上样 ng 级别(对每条带的蛋白量而言),如果用考染,需要上样 ug 级别(对每条带的蛋白量而言)。
14. 用 150 V 恒压电压进行电泳,直到染料进入胶底部(在 B 型电泳液中,溴酚蓝的速度相当于 3-5 KD 的蛋白质)。注意:在长效期 SDS-PAGE 中的电泳速度要快于普通 SDS-PAGE。在 B 型电泳液中的速度又快于 A 型电泳液。过程中,电流会降低,属于正常现象。
15. 终止电泳,取出凝胶进行后续的实验处理(如染色或转膜)。注意:Western 转膜需要专门的转膜液(天恩泽基因可以提供)。

**二:如果需要更高分辨率,也可把上法配制的胶当成分离胶,并在其上再叠加 4%的浓缩胶,操作如下:**

16. 按上面方法配制分离胶,只是倒胶后在胶面距离顶部 1.5 cm 的时候,或者距梳子齿 0.5 cm 时,停止灌胶。然后覆盖一层 1-5 mm 厚的水,使胶顶部液面平整。室温聚合 30-60 分钟(低温抑制聚合反应)后,用 1×长效期 SDS-PAGE 配胶液洗涤凝固的胶的顶部,待用。
17. 配制 4%浓缩胶(参考上节第 4-6 步)。倒胶后在液面达到顶部时停止灌胶,插入梳子,室温聚合 30-60 分钟(低温抑制聚合反应)。
18. 拔出梳子,用 1×电泳液(A 型或 B 型)冲洗加样孔,后续处理接第 7 步。