

## 一步法凝胶制备试剂盒(8%)

### 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。

Leagene 一步法凝胶制备试剂盒(8%)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 8% 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, 利用该试剂盒配值的预制胶, 可高效兼容传统的电泳液及转膜液。本试剂盒可配制 0.75mm 厚的 mini PAGE 胶 125 块、1.0mm 厚的 PAGE 胶约 90 块或 1.5mm 厚的 PAGE 胶约 60 块, 8% 的分离胶最佳分离范围是 30~90kD。该试剂仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成:

| 名称                | 编号 | PE0422<br>125T | Storage |
|-------------------|----|----------------|---------|
| 试剂(A): 下层胶预混液(8%) |    | 500ml          | 4°C 避光  |
| 试剂(B): 上层胶预混液     |    | 200ml          | 4°C 避光  |
| 试剂(C): APS        |    | 2×0.5g         | RT 避光   |
| 试剂(D): TEMED      |    | 2ml            | 4°C 避光  |
| 使用说明书             |    |                | 1 份     |

### 自备材料:

- 1、垂直电泳装置、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°C 或 4°C。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°C 保存, 通常半年内有效, 4°C 保存, 1 周有效。
- 2、将玻璃板固定好, 并确定不会漏液, 按照下表配制一块不同厚度的 8% 的分离胶(下层胶), 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。

| 凝胶厚度    | 0.75mm     | 1.0mm       | 1.5mm      |
|---------|------------|-------------|------------|
| 下层胶预混液  | 2.0ml      | 2.7ml       | 4.0ml      |
| 10%过硫酸铵 | 20 $\mu$ l | 27 $\mu$ l  | 40 $\mu$ l |
| TEMED   | 2 $\mu$ l  | 2.7 $\mu$ l | 4 $\mu$ l  |

- 3、倒出蒸馏水，按照下表配制一块不同厚度的 5%的浓缩胶(上层胶)，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。

| 凝胶厚度    | 0.75mm     | 1.0mm       | 1.5mm      |
|---------|------------|-------------|------------|
| 上层胶预混液  | 1.0ml      | 1.5ml       | 2.0ml      |
| 10%过硫酸铵 | 10 $\mu$ l | 15 $\mu$ l  | 20 $\mu$ l |
| TEMED   | 1 $\mu$ l  | 1.5 $\mu$ l | 2 $\mu$ l  |

- 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、过硫酸铵配制成为 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、该试剂盒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。

9、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

**有效期：**6个月有效；常温运输，按要求保存。

**附录：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：**

| 产品编号   | 产品名称                   |
|--------|------------------------|
| PE0025 | SDS-PAGE 蛋白加样缓冲液(5×)   |
| PE0092 | Tris-甘氨酸电泳缓冲液(5×)      |
| PS0013 | RIPA 裂解液(强)            |
| DH0006 | 苏木素伊红(HE)染色液(醇溶)       |
| PW0035 | Western 转移缓冲液(5×)      |
| TC0699 | 植物总糖和还原糖检测试剂盒(DNS 比色法) |