

## M5 SDS-PAGE Gel Kit 使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 SDS-PAGE Gel Kit	40-60sheets	MF422-01
M5 SDS-PAGE Gel Kit	200-300sheets	MF422-04

### 【储存条件】

2-8℃

### 【产品简介】

本产品包括 SDS-PAGE 凝胶制备所需全套试剂，只需自备纯水，即可制备高质量各种浓度的变性 PAGE 凝胶，方便、快捷。本试剂盒在分离胶缓冲液和浓缩胶缓冲液中已加入 10%SDS，使用时不用另外加入。

### 【产品组份】

	MF422-01	MF422-04
30%Acr-Bis (29:1)	100 ml	2×250 ml
SDS-PAGE Separating Gel Buffer (4×)	100 ml	500 ml
SDS-PAGE Stacking Gel Buffer (4×)	50 ml	250 ml
APS	0.5 g	2.5 g
TEMED	1 ml	5 ml

本产品所提供的 APS（过硫酸铵）为固体粉末，使用前加入纯水溶解即配制成 10%APS 溶液（0.5 g APS 加 5 ml 纯水、2.5 g APS 加 25 ml 纯水），将溶液分装后置于-20℃保存，通常半年内有效。溶液在使用中可放置 4℃保存两周。

### 【注意事项】

1. 10%APS 配制后分装-20 度保存。APS 溶液不稳定，应尽量减少室温存放时间，每次取用后立即放回冰箱，以防失效；若发现凝胶聚合时间延长，应考虑更换使用-20 度保存的 10%APS。
2. PAGE 凝胶的凝聚速度与温度以及 APS、TEMED 的用量密切相关；在其它条件不变的情况下，可通过改变 APS 及 TEMED 的用量，控制 PAGE 凝胶的聚合速度，凝胶聚合过快不利于操作；附表中的 APS 及 TEMED 量可供参考，应根据实际操作情况做适当的调整。
3. 在凝胶配制过程中，尤其是液体混匀步骤，应尽量避免气泡的产生。
4. 在分离胶上层加纯水时要小心操作，加水时速度不能太快。
5. 丙烯酰胺具有神经毒性，操作时请穿着实验服并佩戴一次性手套。
6. 本产品仅用于科研，不能用于人体实验或人体治疗。

**【使用方法】**

根据目的蛋白分子量大小选择合适的 PAGE 分离胶配制浓度，最佳胶浓度请参考附表 1。

**I 灌制分离胶（各试剂使用量请参考附表 3）**

1. 参照凝胶模具说明书，装配好凝胶模具。

注：加入上层筛板有助于加样时保持填料与样品均匀接触，是否加入上层筛板可根据实际情况选择。

2. 将不同体积的 30% Acr-Bis(29:1)、SDS-PAGE Separating Gel Buffer 和纯水在小烧杯或试管中混合。

3. 加入 10% APS 和 TEMED，轻轻搅拌使其混匀，避免产生气泡。

4. 在凝胶模具中灌入适量分离胶溶液（对于 mini-gel，凝胶液加至约距前玻璃板顶端 1.5 cm 或距梳齿约 0.5 cm 即可），然后在分离胶溶液上轻轻覆盖一层 1 cm 的水层，使凝胶表面保持平整。

5. 静置 30-60 分钟，待分离胶和水层之间出现一个清晰的界面后，表面凝胶已聚合。

**II 灌制浓缩胶（各试剂使用量请参考附表 2）**

1. 去除覆盖在分离胶上的水层。

2. 将不同体积的 30% Acr-Bis(29:1)、SDS-PAGE Stacking Gel Buffer 和纯水在一个小烧杯或试管中混合。

3. 加入 10% APS 和 TEMED，轻轻搅拌使其混匀，避免产生气泡。

4. 将浓缩胶溶液加至分离胶的上面，直至凝胶溶液到达前玻璃板的顶端。

5. 将梳子插入凝胶内，避免产生气泡。

6. 静置 10~20 分钟，等待浓缩胶聚合。

7. 待凝胶聚合后，小心地拔出梳子，以免破坏加样孔。

8. 进行常规电泳操作。

**【附表】**

附表1. SDS-PAGE分离胶的浓度与最佳分离范围

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

附表2. 配制5%SDS-PAGE浓缩胶

凝胶 体积	所需各组分体积 (单位: ml)				
	纯水	30%Acr-Bis(29:1)	SDS-PAGE Stacking Gel Buffer (4×)	10%APS	TEMED
2ml	1.14	0.34	0.5	0.02	0.002
4ml	2.28	0.68	1	0.04	0.004
6ml	3.42	1.02	1.5	0.06	0.006
8ml	4.56	1.36	2.0	0.08	0.008

附表3. 配制SDS-PAGE分离胶

分离胶 浓度	凝胶 体积	所需各组分体积 (单位: ml)				
		纯水	30%Acr-Bis(29:1)	SDS-PAGE Separating Gel Buffer (4×)	10%APS	TEMED
6%	5ml	2.75	1.0	1.25	0.05	0.004
	10ml	5.5	2.0	2.5	0.1	0.008
	15ml	8.25	3.0	3.75	0.15	0.012
	20ml	11	4.0	5	0.2	0.016
8%	5ml	2.42	1.33	1.25	0.05	0.003
	10ml	4.8	2.7	2.5	0.1	0.006
	15ml	7.25	4.0	3.75	0.15	0.009
	20ml	9.7	5.3	5	0.2	0.012
10%	5ml	2.08	1.67	1.25	0.05	0.002
	10ml	4.17	3.33	2.5	0.1	0.004
	15ml	6.25	5.0	3.75	0.15	0.006
	20ml	8.3	6.7	5	0.2	0.008
12%	5ml	1.75	2.0	1.25	0.05	0.002
	10ml	3.5	4.0	2.5	0.1	0.004
	15ml	5.25	6.0	3.75	0.15	0.006
	20ml	7.0	8.0	5	0.2	0.008
15%	5ml	1.25	2.5	1.25	0.05	0.002
	10ml	2.5	5.0	2.5	0.1	0.004
	15ml	3.75	7.5	3.75	0.15	0.006
	20ml	5	10.0	5	0.2	0.008

**【备注】**

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。