



# 一步法SDS-PAGE凝胶制备试剂盒 (非固定浓度型)

**Cat.NO.:** ZD304H**产品组成:**

试剂盒组成	ZD304H(125次)	货号规格
分离胶A液(2×)	250ml	说明: 试剂盒按照制备125块最大浓度15%的mini胶(0.75mm)配置相关试剂。大量配置其它浓度胶会出现30%制胶液多余, 属于正常现象。您可以单独定制各个组分。
30%制胶液	250ml	
浓缩胶A液(2×)	80ml	
浓缩胶B液(2×)	80ml	
10%过硫酸铵	10ml	
红色染料	1ml	
说明书	一份	

**产品简介:**

本产品为一步法SDS-PAGE凝胶的预混配方。产品支持客户按需要制备4-15%之间任一浓度分离胶, 且支持一步灌胶, 无需等待分离胶凝固再灌浓缩胶; 此浓缩胶可以添加染料, 使上样孔更清晰, 方便点样。制备的凝胶与传统Tris-甘氨酸电泳液完美兼容, 且电泳方法一致。

**储存条件:**

4°C保存; 室温运输。

**10%过硫酸铵:** 加10ml 双蒸水配制为10%溶液。务必分装成0.5ml或一天内使用量的小管-20°C保存, 短期可暂时放4°C; 通常冻存状态下一年内有效。过硫酸铵粉末可以室温长期保持, 潮解会完全失活, 务必密封保存。

**产品特点:**

简单快速: 只需要1:1添加即可; 一步灌胶, 无需等待分离胶凝固。

方便: 制胶浓度4-15%都可以。非固定浓度制胶试剂盒。

避免异味: 无需使用TEMED。

**制作流程:** (以一块 0.75/ 1.0/ 1.5 mm 的 mini 胶为例)

**A 准备:** 清洗并组装好制胶槽

**B 制备分离胶** 0.75/ 1.0/ 1.5 mm 的 mini 胶, 通常制胶量分别为 3.6/5/7ml。

以下表格以配置10ml胶为例, 其它配置量按照比例计算后添加。

	分离胶A液(2×)	30%制胶液	ddH <sub>2</sub> O	加入聚合催化剂
6%分离胶	5ml	2ml	3ml	按1/100比例加入10%过硫酸铵溶液, 即100ul, 混匀; 推荐最后加入此组分。
8%分离胶	5ml	2.67ml	2.33ml	
10%分离胶	5ml	3.33ml	1.67ml	
12%分离胶	5ml	4ml	1ml	
15%分离胶	5ml	5ml	0	

**灌胶:** 将混合溶液注入制胶玻璃板中。

注: 本试剂盒可以一步灌胶, 不用等待分离胶凝固, 紧接着灌浓缩胶即可。如要采用分步制胶亦可, 加入适量水或醇(如异丙醇、正丁醇等)覆盖于下层胶之上, 等待凝固;



## C 制备浓缩胶

1. 等体积混合: 取等体积 浓缩胶A液 和 浓缩胶B液 混匀, 即取两种溶液各 0.5/ 0.75/ 1 ml。
2. 浓缩胶添加染料 (可选步骤): 加入2/3/4ul染料, 混匀。(此红色染料为小分子染料, 实验验证不会影响电泳和后续实验)
3. 加入聚合催化剂: 按1/100比例加入 10/ 15/ 20  $\mu$ l 的 10%过硫酸铵溶液, 混匀。

注: 制备分离胶和浓缩时, 试剂A、B、10%过硫酸铵、红色染料一起加入, 再混匀亦可。

4. 灌胶: 从左到右缓慢注入制胶玻璃板中, 插入梳齿;

注: 灌胶一定要轻缓, 避免上层胶冲入下层; 建议不要在一个位置加注浓缩胶, 避免不均匀。

5. 待胶凝固后, 拔去梳齿即可用于电泳。注意: 请尽量使用新鲜配制的电泳缓冲液。

## 凝胶电泳:

使用Tris-甘氨酸电泳液, 推荐电泳条件: 设定电压80V, 电泳约30分钟, 样品进入分离胶后, 调整电压至120V, 约1小时后, 样品电泳至凝胶底部, 停止电泳。

## 常见问题及解决办法:

常见问题	可能的原因	建议解决办法
1、凝胶速度太快	过硫酸铵用量过多	客户可根据实际情况调整过硫酸铵用量
2、凝胶速度慢或不凝固	①过硫酸铵失效 ②凝胶过程中频繁晃动	①可增加过硫酸铵用量, 当增加过硫酸铵用量后, 凝胶时间仍超过30min, 建议更换过硫酸铵 ②凝胶过程中不要晃动凝胶模具
3、浓缩胶和分离胶界面不齐	①灌胶方法不对 ②凝胶模具具有轻微漏胶	①轻缓, 从左到右缓慢加注 ②制胶前检测模具是否漏水
4、胶凝固后高度变低	①凝胶模具底部漏胶 ②封边用的水或醇体积过多	①制胶前检测模具是否漏水 ②用0.5-1ml体积的水或醇封边, 勿多用
5、条带呈笑脸状	①胶中心部分凝固不完全 ②电泳电压过大	①延长凝固时间, 表面凝固不代表中间凝固 ②电泳电压一般推荐为80-120v
6、条带拖尾或有竖向纹理	样品溶解不完全, 有不溶颗粒 或样品中盐离子成分过多	上样前将样品离心, 或将蛋白透析后再电泳
7、蛋白有横向扩散	蛋白上样量过大	降低上样量