

SDS-PAGE 分离胶缓冲液(4×)

SDS-PAGE Separation Gel Buffer (4 x)

产品货号： C5006

产品规格： 100ml, 500ml

储存条件： 室温保存，有效期 24 个月。

产品简介：

本试剂由 1.5mol/L Tris-HCl (pH=8.8)和 0.4% SDS 组成，主要用于制备变性 & 非变性 SDS-PAGE 凝胶。配制分离胶时，10ml 制胶体系中加入 2.5ml (4 倍稀释)。

本产品仅用于科研领域，不用于临床诊断。

自备材料：

1. 凝胶模具
2. Acr-Bis (30%,29:1)
3. 10%APS (过硫酸铵)
4. TEMED
5. 蒸馏水

使用说明：

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。

(一) 灌制分离胶 (各试剂使用量请参考附表 2)

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 Acr-Bis (30%,29:1)、分离胶缓冲液和蒸馏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 0.5cm 即可)，然后在分离胶溶液上轻轻覆盖一层 1-2cm 水层，使凝胶表面保持平整。
5. 静置 30 ~ 60min，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。

(二) 灌制浓缩胶(各试剂使用量请参考附表 3)

1. 小心倾倒出覆盖在分离胶上的水层。
2. 将不同体积的 Acr-Bis (30%,29:1)、浓缩胶缓冲液和蒸馏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 30 ~ 60min，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

注意事项:

1. 过硫酸铵配制成 10%溶液后应当-20℃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℃保存，用 2~3 次，剩余的弃用，亦可 4℃保存几天。
2. 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。
3. 配制聚丙烯凝胶的过程中，如果室温较低，可以置于 37℃放置，加速凝固。
4. Acr-Bis (30%,29:1)有轻微神经毒性，请小心操作。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

附表 1. 不同浓度的 SDS-PAGE 分离胶的最佳分离范围

分离胶浓度	最佳分离范围
6%胶	57-212kD
8%胶	36-94kD
10%胶	20-80kD
12%胶	12-60kD
15%胶	10-43kD

附表 2. 配制 SDS-PAGE 分离胶，配制 10ml 分离胶所需各成分的体积(毫升)

分离胶浓度	Bioss 产品	6%	8%	10%	12%	15%
蒸馏水	--	5.4	4.7	4.1	3.4	2.4
Acr-Bis(30%,29:1)	C05-03004	2	2.7	3.3	4	5
分离胶缓冲液 (4X)	C5006	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
10%过硫酸铵	C05-03009	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
TEMED	C05-03008	0.008	0.006	0.004	0.004	0.004

附表 3. 配制 5%SDS-PAGE 的浓缩胶(也称堆积胶、积层胶或上层胶)

成分	Bioss 产品	所需各成分的体积(毫升)					
凝胶体积	--	2	3	4	5	6	8
蒸馏水	--	1.2	1.8	2.4	3	3.6	4.8
Acr-Bis(30%,29:1)	C05-03004	0.3	0.45	0.6	0.75	0.9	1.2
浓缩胶缓冲液 (4X)	C5005	0.5	0.75	1	1.25	1.5	2
10%过硫酸铵	C05-03009	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.08
TEMED	C05-03008	0.002	0.003	0.004	0.005	0.006	0.008