



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// www.real-tims.com.cn

E-mail: real-times@163.com

尿素-SDS-PAGE 凝胶快速制备及电泳试剂盒

| 货号 | 名称 | 规格 |
|---------|-----------------------|------|
| RTD6163 | 尿素-SDS-PAGE 凝胶快速制备试剂盒 | 50 次 |

● 产品组成:

| 货号 | 名称 | 规格 | 贮存 |
|-----------|--------------------------------|--------|-------|
| AC2914-02 | 40%PAA(29:1) | 100 ml | 4℃ |
| TS050-01 | 4×Tris/SDS 分离胶缓冲液 pH8.8 | 100 ml | 4℃ |
| TS030-01 | 4×Tris/SDS 浓缩胶缓冲液 pH6.8 | 50 ml | 4℃ |
| RU5080 | 尿素（电泳级） | 220 克 | RT |
| AP020P | APS（干粉） | 0.5 g | RT |
| TA0761-01 | TEMED | 0.5ml | 4℃，避光 |
| PL080-01 | 5×MonoColor 蛋白上样缓冲液(变性,还原) | 1 ml | -20℃ |
| TG120P | 5×Tris-甘氨酸-SDS 电泳缓冲液(变性电泳,粉末型) | 1 L | RT |
| | 说明书 | 一份 | |

● 贮存、效期及运输:

按照标签温度贮存；有效期一年；常温运输。

● 产品简介:

本公司提供的尿素-SDS-PAGE 凝胶快速制备试剂盒包含凝胶制备以及蛋白电泳所需的全部试剂。在 SDS-PAGE 中尿素作为辅助的变性剂，能与 SDS 一起彻底变性蛋白，特别是一些跨膜多次的蛋白，尿素辅助 SDS 可以彻底打开蛋白的高级结构。该产品可以用于 Blue Native 电泳分离后的二向电泳，也可以用于一些碱性蛋白如组蛋白，鱼精蛋白的变性电泳分离。

本试剂盒可配制至少 50 块常规大小（8×10 cm）1mm 厚度的 PAGE 胶。

● 使用说明:

一. 配制分离胶（各试剂使用量请参考表 1）

1.1 配制分离胶前，根据以下配方准备 10% APS 溶液-5 ml:

将 0.5 g APS 干粉溶于 5 ml 灭菌水中，彻底溶解后分装，1 ml/支，-20℃ 备存，每次取一管使用。10% APS 应尽量减少常温存放时间，以防失效。10%APS 在 4℃有效期为一周，-20℃有效期 6 个月。若发现凝胶聚合时间延长，应考虑更换使用-20℃保存的 10%APS。

1.2 按照表 1 将不同体积的成分在小烧杯或试管中混合；加入 10%APS 和 TEMED，轻轻搅拌使其均匀，避免产生气泡。

1.3 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 1-5 cm 的水层，使凝胶表面保持平整。

1.4 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，说明凝胶已聚合。

表 1 SDS-PAGE 分离胶配方表

| 组份 | 不同凝胶体积对应各组份的取样量 | | | |
|-----------------------------|-----------------|--------------|--------------|--------------|
| 6% 胶 | 5 ml | 10 ml | 15 ml | 20 ml |
| 尿素 | 1.8 g | 3.6 g | 5.4 g | 7.2 g |
| 4×Tris/SDS 分离胶 buffer pH8.8 | 1.25 ml | 2.5 ml | 3.75 ml | 5 ml |
| 40% PAA (29:1) | 0.75 ml | 1.5 ml | 2.25 ml | 3 ml |
| H ₂ O | 定容至 5ml | 定容至 10 ml | 定容至 15 ml | 定容至 20 ml |
| TEMED | 0.005 ml | 0.01 ml | 0.015 ml | 0.02 ml |
| 10% APS | 0.05 ml | 0.1 ml | 0.15 ml | 0.2 ml |
| 8% 胶 | 5 ml | 10 ml | 15 ml | 20 ml |
| 尿素 | 1.8 g | 3.6 g | 5.4 g | 7.2 g |
| 4×Tris/SDS 分离胶 buffer pH8.8 | 1.25 ml | 2.5 ml | 3.75 ml | 5 ml |
| 40% PAA (29:1) | 1 ml | 2 ml | 3 ml | 4 ml |
| H ₂ O | 定容至 5ml | 定容至 10 ml | 定容至 15 ml | 定容至 20 ml |
| TEMED | 0.005 ml | 0.01 ml | 0.015 ml | 0.02 ml |
| 10% APS | 0.05 ml | 0.1 ml | 0.15 ml | 0.2 ml |
| 10% 胶 | 5 ml | 10 ml | 15 ml | 20 ml |
| 尿素 | 1.8 g | 3.6 g | 5.4 g | 7.2 g |
| 4×Tris/SDS 分离胶 buffer pH8.8 | 1.25 ml | 2.5 ml | 3.75 ml | 5 ml |
| 40% PAA (29:1) | 1.25 ml | 2.5 ml | 3.75 ml | 5 ml |
| H ₂ O | 定容至 5ml | 定容至 10 ml | 定容至 15 ml | 定容至 20 ml |
| TEMED | 0.005 ml | 0.01 ml | 0.015 ml | 0.02 ml |
| 10% APS | 0.05 ml | 0.1 ml | 0.15 ml | 0.2 ml |
| 12% 胶 | 5 ml | 10 ml | 15 ml | 20 ml |
| 尿素 | 1.8 g | 3.6 g | 5.4 g | 7.2 g |
| 4×Tris/SDS 分离胶 buffer pH8.8 | 1.25 ml | 2.5 ml | 3.75 ml | 5 ml |
| 40% PAA (29:1) | 1.5 ml | 3 ml | 4.5 ml | 6 ml |
| H ₂ O | 定容至 5ml | 定容至 10 ml | 定容至 15 ml | 定容至 20 ml |
| TEMED | 0.005 ml | 0.01 ml | 0.015 ml | 0.02 ml |
| 10% APS | 0.05 ml | 0.1 ml | 0.15 ml | 0.2 ml |
| 15% 胶 | 5 ml | 10 ml | 15 ml | 20 ml |
| 尿素 | 1.8 g | 3.6 g | 5.4 g | 7.2 g |
| 4×Tris/SDS 分离胶 buffer pH8.8 | 1.25 ml | 2.5 ml | 3.75 ml | 5 ml |
| 40% PAA (29:1) | 1.875 ml | 3.75 ml | 5.625 ml | 7.5 ml |
| H ₂ O | 定容至 5ml | 定容至 10 ml | 定容至 15 ml | 定容至 20 ml |
| TEMED | 0.005 ml | 0.01 ml | 0.015 ml | 0.02 ml |
| 10% APS | 0.05 ml | 0.1 ml | 0.15 ml | 0.2 ml |

二. 浓缩胶制备:

2.1 去除覆盖在分离胶上的水层。

2.2 按照表 2 将不同体积成分在一个小烧杯或试管中混合; 加入 10%过硫酸铵和 TEMED, 轻轻搅拌使其混匀, 避免产生气泡。

2.3 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。

2.4 将梳子插入凝胶内, 避免产生气泡。

2.5 静置 30-60 分钟, 等待浓缩胶聚合。

表 2 SDS-PAGE 浓缩胶(4%)配方表

| 组份 | 不同凝胶体积对应各组份的取样量 | | | |
|-----------------------------|-----------------|----------|----------|-----------|
| | 2 ml | 4 ml | 5 ml | 10 ml |
| 尿素 | 0.72 g | 1.44 g | 1.8 g | 3.6 g |
| 4×Tris/SDS 浓缩胶 buffer pH6.8 | 0.5 ml | 1 ml | 1.25 ml | 2.5 ml |
| 40% PAA (29:1) | 0.2 ml | 0.4 ml | 0.5 ml | 1 ml |
| H ₂ O | 定容至 2 ml | 定容至 4 ml | 定容至 5 ml | 定容至 10 ml |
| TEMED | 0.002 ml | 0.004 ml | 0.005 ml | 0.01 ml |
| 10% APS | 0.02 ml | 0.04 ml | 0.05 ml | 0.1 ml |

三. 电泳:

3.1 5×Tris-甘氨酸-SDS 电泳缓冲液的配制-1 L:

将一包 5×Tris-甘氨酸-SDS 电泳缓冲液干粉全部倒入 1L 烧杯中, 加入约 900 ml 水彻底溶解, 用水定容至 1 L, 即配成 5×Tris-甘氨酸-SDS 电泳缓冲液 (此溶液不用调节 pH 值)。用前再稀释 5 倍即配成 1×Tris-甘氨酸-SDS 电泳缓冲液。

3.2 电泳:

在电泳槽的内槽内加入 1×Tris-甘氨酸-SDS 电泳缓冲液(让电泳缓冲液漫过加样孔), 轻轻的拨出梳子, 随后在电泳槽外槽加入适量的 1×Tris-甘氨酸-SDS 电泳缓冲液。上样, 电泳, 一般是浓缩胶 80V, 分离胶 120V 恒压, 等指示前沿溴酚兰电泳到分离胶下缘后, 结束电泳, 染色或者进行下一步实验。