

Native-PAGE 非变性凝胶快速制备试剂盒 说明书

产品编号：BN24910 规格：30T(可制30-50块胶)

产品内容

产品组成	包装
30% Acr-Bis (29:1)	100 ml
4X 分离胶缓冲液	70 ml
4X 浓缩胶缓冲液	30 ml
过硫酸铵(APS)	0.5 g
TEMED	0.5ml

产品简介

本试剂盒提供了配制非变性聚丙烯酰胺凝胶的各种试剂，用户只需自备制胶器和纯水，即可配制非变性凝胶进行非变性蛋白质电泳。试剂盒中4×分离胶缓冲液和4×浓缩胶缓冲液分别含有 Tris-HCl (pH 8.8)和 Tris-HCl (pH 6.8)，使用方便、快捷。

本试剂盒大约可以配制 30~50 块常规大小的 PAGE 胶，具体配制的量应根据器具大小决定。

操作步骤

- I. 配制 10% APS：用 5ml 蒸馏水溶解 0.5g 过硫酸铵(APS)，充分溶解后分装成小管储存于-20°C。
- II. 灌制分离胶
 1. 根据样品情况选择合适的分离胶浓度，各试剂使用量请参考附表 1。
 2. 参照凝胶模具说明书，装配好凝胶模具。
 3. 将不同体积的 30% Acr-Bis (29:1)、4×分离胶缓冲液和纯水在小烧杯或试管中混合。
 4. 加入 10% APS 和 TEMED，轻轻搅拌使其混匀，避免产生气泡。
 5. 在凝胶模具中灌入适量分离胶溶液，然后在分离胶溶液上轻轻覆盖一层 1cm 的水层，使凝胶表面保持平整。
 6. 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。
- III. 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)、4×浓缩胶缓冲液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. 将梳子慢慢插入凝胶内，避免产生气泡。
6. 静置 20~30 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。

保存方法

1. 4X 分离胶缓冲液、4X 浓缩胶缓冲液和过硫酸铵室温保存。30% Acr-Bis (29:1) 和 TEMED 4℃避光保存，1 年有效。
2. 10% APS 配制完成后分装成小管于-20℃保存，通常半年有效。

注意事项

1. 过硫酸铵溶液不稳定，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℃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 10%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. 本试剂盒主要适用于分离酸性蛋白，同时注意蛋白上样缓冲液和电泳缓冲液都不能含有 SDS 等蛋白变性剂。
6. TEMED 易挥发，有轻微刺激性气味，易燃，有腐蚀性，使用时注意防护。
7. 配胶用丙烯酰胺有神经毒性，可通过皮肤吸收，其作用具有积累性，配制时应戴手套。聚丙烯酰胺（聚合后）无毒，但也应谨慎操作，因为有可能含有少量的未聚合成分。
8. 为了您的安全和健康，操作时请穿着实验服并佩戴一次性手套。

附表 1. 配制分离胶所需各组分的体积

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

附表 2. 配制 5%浓缩胶所需各组分体积

浓缩胶浓度	凝胶体积 (ml)	所需各组分体积(ml)				
		纯水	30%Acr-Bis(29:1)	4X 浓缩胶缓冲液	10%APS	TEMED
5%	2	1.14	0.34	0.5	0.02	0.002
	4	2.28	0.68	1.0	0.04	0.004
	6	3.42	1.02	1.5	0.06	0.006
	8	4.56	1.36	2.0	0.08	0.008