

SDS-PAGE 凝胶配制操作及常见问题

1, 采用博鹭腾快速免染凝胶制备试剂盒 (SPGT001) 配制:

(1) 将玻璃板、样品梳、制胶架上的橡胶垫, 用洗涤剂洗净, 用 ddH₂O 冲洗数次, 再用乙醇擦拭, 晾干; (清洗这一步其实非常重要对最终跑出来的条带是不是好看有很大的影响, 不在乎条带是不是清洗好看的同学可以忽略此步骤)



(2) 将两块洗净的玻璃放入制胶架, 一定要确保制胶架是平放在桌面上的, 不然做出来的胶面会斜。

(3) 称取 APS (过硫酸铵) 粉末 0.1 g, 用 1 mL 超纯水完全溶解。

(4) 将分离胶 A、B 液 1:1 混合均匀后按照 100:1 的比例加入 APS 溶液, 再次混匀, 沿着玻璃板一侧向两块玻璃板中间胶室中缓慢注入配制好的下层胶溶液至胶室的三分之二到四分之三处 (根据实际实验需求来定), 注意不要出现气泡, 可以左右缓慢移动使凝胶液面平整;

(5) 随后将浓缩胶 A、B 液按照同样的方法混合均匀后缓慢加入, 插入梳子后等待 15-30 分钟。此操作可由仪器自动完成 (PAG-100 Auto BLT)。

最佳分离范围表

分离胶浓度	分离范围 (kDa)
6%	140-200
8%	80-140
10%	25-80
12%	15-40
15%	<15



分离胶浓度和蛋白分子量不符会怎么样?

首先要了解凝胶浓度和凝胶孔径的关系, 凝胶浓度越大, 凝胶孔径就越小, 反之就越大。蛋白电泳是在孔道里迁移, 孔径越大, 蛋白迁移速度就会越快, 反之孔径越小, 蛋白迁移速率就会越慢。

凝胶浓度和蛋白分子量不符, 则会出现两种情况, 若蛋白分子量小凝胶浓度小, 那么凝

广州博鹭腾生物科技有限公司

网站: www.bltlux.com

电话: 400-856 2998

地址: 广东省广州市黄埔区崖鹰石路 9 号森瑞春生物科技园 A 栋 7 楼



胶对蛋白的节流能力小,蛋白可能从凝胶中跑出去;另一种情况蛋白分子量大凝胶浓度也大,那么蛋白就会在跑道里跑不动,卡在一个位置无法分离。

2, 配胶常见问题及建议:

1. 漏胶

90%以上都是由于玻璃板没对齐所致,建议:玻璃板一定要干燥,因为有水玻璃板会吸得很紧,不容易对齐。另外漏胶的原因可能是玻璃板底部缺损,厚玻璃板边条密闭性不良,塑料夹子太松等。

2. 胶不凝

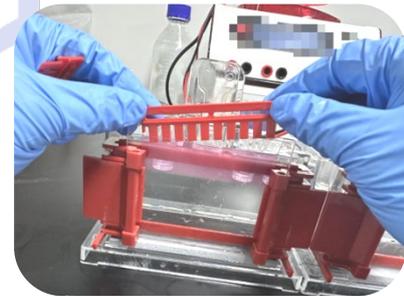
APS 失效了,或者胶没凝好就被晃动过了。建议:APS 用密封性较好容器保存,以免接触水或湿气,避免阳光直射防止光照引起的分解反应,低温保存。

3. 胶凝得不均匀

玻璃板没洗干净,表面有灰尘等杂质,试剂有沉淀,没混匀等。

4. 胶中有气泡

两种情况,一是下层胶有自底部向上出现的成串气泡,这是由于胶垫材质(类似海绵,胶垫在被挤压时气体冒进胶中)所致,建议改用实心的软胶垫或者加一层保鲜膜。另一种是梳子下缘有气泡,这是插梳子的问题,建议插梳子时先插一侧,再插另一侧。



5. 上层胶中电泳出现"漏样"

一是玻璃板与胶局部分离产生了缝隙,要注意取玻璃板(带有胶)时小心,不能有分离玻璃板与胶的动作;保存胶时注意不要将两块玻璃板直接接触,否则在取出来时由于两玻璃板之间充满液体,在大气压下吸得很紧,分开时容易将胶与玻璃板分离;拔梳子时也要小心,动作要轻;上样时也要注意,不能将枪头插得太深,以防将胶与玻璃板撑分离了。

