

蛋白质电泳相关试剂、缓冲液的配制方法

30% (W/V) Acrylamide

■ 组份浓度 30% (W/V) Acrylamide

■ 配制量 1 L

■ 配制方法 1. 称量下列试剂，置于 1 L 烧杯中。

Acrylamide	290 g
BIS	10 g

2. 向烧杯中加入约 600 ml 的去离子水，充分搅拌溶解。

3. 加去离子水将溶液定容至 1 L，用 0.45 μm 滤器滤去杂质。

4. 于棕色瓶中 4°C 保存。

注意：丙烯酰胺具有神经毒性，可通过皮肤吸收，其作用具有积累性，配制时应戴手套。聚丙烯酰胺无毒，但也应谨慎操作，因为有可能含有少量的未聚成份。

40% (W/V) Acrylamide

■ 组份浓度 40% (W/V) Acrylamide

■ 配制量 1 L

■ 配制方法 1. 称量下列试剂，置于 1 L 烧杯中。

Acrylamide	380 g
BIS	20 g

2. 向烧杯中加入约 600 ml 的去离子水，充分搅拌溶解。

3. 加去离子水将溶液定容至 1 L，用 0.45 μm 滤器滤去杂质。

4. 于棕色瓶中 4°C 保存。

注意：丙烯酰胺具有神经毒性，可通过皮肤吸收，其作用具有积累性，配制时应戴手套。聚丙烯酰胺无毒，但也应谨慎操作，因为有可能含有少量的未聚成份。

10% (W/V) 过硫酸铵

■ 组份浓度 10% (W/V) 过硫酸铵

■ 配制量 10 ml

■ 配制方法 1. 称取 1 g 过硫酸铵。

2. 加入 10 ml 的去离子水后搅拌溶解。

3. 贮存于 4°C。

注意：10%过硫酸铵溶液在 4°C 保存时可使用 2 周左右，超过期限会失去催化作用。

5 × Tris–Glycine Buffer
 (SDS–PAGE 电泳缓冲液)

- 组份浓度 0.125 M Tris, 1.25 M Glycine, 0.5% (W/V) SDS
- 配制量 1 L
- 配制方法
 1. 称量下列试剂, 置于 1 L 烧杯中。

Tris	15.1 g
Glycine	94 g
SDS	5.0 g
 2. 向烧杯中加入约 800 ml 的去离子水, 搅拌溶解。
 3. 加去离子水将溶液定容至 1 L 后, 室温保存。

5 × SDS–PAGE
Loading Buffer

- 组份浓度

250 mM	Tris–HCl (pH6.8)
10% (W/V)	SDS
0.5% (W/V)	BPB
50% (V/V)	甘油
5% (V/V)	β–巯基乙醇 (2–ME)
- 配制量 5 ml
- 配制方法
 1. 量取下列试剂, 置于 10 ml 塑料离心管中。

1 M Tris–HCl (pH6.8)	1.25 ml
SDS	0.5 g
BPB	25 mg
甘油	2.5 ml
 2. 加去离子水溶解后定容至 5 ml。
 3. 小份 (500 μl/份) 分装后, 于室温保存。
 4. 使用前将 25 μl 的 2–ME 加到每小份中。
 5. 加入 2–ME 的 Loading Buffer 可在室温下保存一个月左右。

考马斯亮蓝 R–250 染色液

- 组份浓度 0.1% (W/V) 考马斯亮蓝 R–250, 25% (V/V) 异丙醇, 10% (V/V) 冰醋酸
- 配制量 1 L
- 配制方法
 1. 称取 1 g 考马斯亮蓝 R–250, 置于 1 L 烧杯中。
 2. 量取 250 ml 的异丙醇加入上述烧杯中, 搅拌溶解。
 3. 加入 100 ml 的冰醋酸, 搅拌均匀。
 4. 加入 650 ml 的去离子水, 搅拌均匀。
 5. 用滤纸除去颗粒物质后, 室温保存。

考马斯亮蓝染色脱色液

- 组份浓度 10% (V/V) 醋酸, 5% (V/V) 乙醇
- 配制量 1 L
- 配制方法 1. 量取下列溶液, 置于 1 L 烧杯中。

醋酸	100 ml
乙醇	50 ml
dH ₂ O	850 ml

- 2. 充分混合后使用。

凝胶固定液

(SDS-PAGE 银氨染色用)

- 组份浓度 50% (V/V) 甲醇, 10% (V/V) 醋酸
- 配制量 1 L
- 配制方法 1. 量取下列试剂, 置于 1 L 试剂瓶中。

甲醇	500 ml
醋酸	100 ml
dH ₂ O	400 ml

- 2. 均匀混合后室温保存。

凝胶处理液

(SDS-PAGE 银氨染色用)

- 组份浓度 50% (V/V) 甲醇, 10% (V/V) 戊二醛
- 配制量 100 ml
- 配制方法 1. 量取下列试剂, 加入 100~200 ml 的试剂瓶中。

甲醇	50 ml
戊二醛	10 ml
dH ₂ O	40 ml

- 2. 均匀混合后室温保存。

凝胶染色液

(SDS-PAGE 银氨染色用)

- 组份浓度 0.4% (W/V) AgNO₃, 1% (V/V) 浓 NH₃ · H₂O, 0.04% (W/V) NaOH
- 配制量 100 ml
- 配制方法 1. 量取下列试剂, 加入 100~200 ml 的试剂瓶中。

20% AgNO ₃	2 ml
浓 NH ₃ · H ₂ O	1 ml
4% NaOH	1 ml
dH ₂ O	96 ml

- 2. 均匀混合。该溶液应无色透明状。如氨水浓度过低时溶液会呈混浊状, 此时应补加浓氨水, 直至透明。
- 3. 本染色液应现用现配, 不宜保存。

显影液

(SDS-PAGE 银氨染色用)

■ 组份浓度 0.005% (W/V) 柠檬酸, 0.02% (V/V) 甲醛**■ 配制量** 1 L**■ 配制方法** 1. 称量下列试剂, 置于 1 L 试剂瓶中。

柠檬酸	50 mg
甲醛	0.2 ml

2. 加入 1 L 去离子水后, 摇动混合溶解。

3. 室温保存。