



Protein Electrophoresis Kit

Code No. PEK9056

Zist Tolid Razi

PEK9056 حاوی مواد لازم برای ساخت حداقل 15 ژل پلی اکریل آمید کوچک برای الکتروفورز پروتئین به روش SDS-PAGE است. SDS-PAGE روشی با قدرت تفکیک بالا برای مطالعه پروتئین‌ها است. در این روش، پروتئین‌ها براساس اندازه در ژل پلی اکریل آمید تفکیک می‌شوند.

محتویات کیت:

کد	ماده	مقدار	تعداد
PEK9056-1	بافر ژل پایین	50 میلی لیتر	1
PEK9056-2	بافر ژل بالا	25 میلی لیتر	1
PEK9056-3	استوک اکریل آمید (30.8%)	60 میلی لیتر	1
PEK9056-4	پرسولفات آمونیوم	100 میلی گرم	2
PEK9056-5	TEMED	500 میکرولیتر	1
PEK9056-6	بافر الکتروود	هر ویال جهت تهیه یک لیتر	3
PEK9056-7	بافر نمونه احیایی (5X)	2 میلی لیتر	1
PEK9056-8	بافر نمونه غیر احیایی (5X)	1 میلی لیتر	1
PEK9056-9	آگارز	50 میلی گرم	1

آماده سازی محلول ها

قبل از تهیه ی ژل، محلول های زیر تهیه گردد.

1- محلول TEMED ده درصد تازه. 20 میکرولیتر از TEMED (PEK9056-5) و 180 میکرولیتر آب

مقطر در یک ظرف تمیز

2- محلول آمونیوم پرسولفات ده درصد تازه. محتوای هر ویال آمونیوم پرسولفات (PEK9056-4) در یک

میلی لیتر آب مقطر حل شود، سپس در حجم های 100 میکرولیتری تقسیم و در فریزر نگهداری

گردد. هر بار یک ویال از فریزر خارج و استفاده گردد.

3- بافر الکتروود. محتویات هر بسته بافر الکتروود (EK9506-6) در یک لیتر آب مقطر حل شود. pH

محلول حاصله حدود 8/3 است و نیازی به تنظیم ندارد. این محلول را می توان در دمای 2 تا 8 درجه

سانتیگراد نگهداری نمود.

4- محلول آگارز، 0/5 درصد: محتویات ویال آگارز (EK9509-9) در 10 میلی لیتر آب مقطر به کمک حرارت کاملاً حل شود. محلول حاصله در حالت مذاب در ظروف درب‌دار کوچک تقسیم و در دمای 2 تا 8 درجه نگهداری شود.

روش ساخت ژل پایین و بالا:

برای ساخت ژل در قالب کوچک الکتروفورز (طول و عرض 8 سانتی متر و ضخامت 0/1 سانتی متر) حداکثر 8 میلی لیتر ژل پایین (ژل جداکننده) و 4 میلی لیتر ژل بالا (متراکم کننده) لازم است اجزا و مقادیر تهیه ژل جداکننده در جدول 1 آمده است. قبل از مخلوط کردن اجزا، قالب شیشه‌ای را آماده و گرم نمایید و در صورت احتمال نشت محلول ژل از حد فاصل شیشه‌ها و فاصله اندازه‌ها (دستگاه‌های ساخت داخل)، حدود 0/2 میلی لیتر محلول آگارز داغ (محلول 0/5 درصد مذاب) را در لبه‌های داخلی قالب شیشه‌ای بگردانید.

جدول 1. مقادیر مورد نیاز برای ساخت 8 میلی لیتر ژل پایین با درصد های مشخص

درصد ژل						اجزای ژل پایین
						(میلی لیتر)
20 درصد	17/5 درصد	15 درصد	12/5 درصد	10 درصد	7/5 درصد	
2	2	2	2	2	2	بافر ژل پایین
1	1/8	2	2/7	3/3	4	آب مقطر
6/5	5/7	3/9	3/25	2/6	1/95	محلول استوک اکریل آمید
0/05	0/05	0/04	0/04	0/04	0/04	محلول پرسولفات آمونیوم 10 درصد
0/05	0/05	0/04	0/04	0/04	0/04	محلول TEMED 10 درصد

توجه: همه اجزای ژل غیر از آمونیوم پرسولفات را در یک ارلن کوچک تمیز مخلوط نمایید. سپس آمونیوم پرسولفات اضافه نموده و پس از همزدن سریعاً وارد قالب شیشه‌ای تا ارتفاع مناسب نمایید. پس از انعقاد ژل پایین که 20-60 دقیقه طول می‌کشد، محلول ژل بالا را تهیه و روی ژل پایین اضافه نمایید. غلظت ژل بالا معمولاً 3-5 درصد است که مقادیر اجرای مورد نیاز آن در جدول 2 آمده است.

جدول 2 (مقادیر مورد نیاز برای ساخت 4 میلی لیتر ژل بالا با درصد های مشخص)

درصد T			اجزای ژل بالا
5 درصد	4 درصد	3 درصد	(میلی لیتر)
1	1	1	بافر ژل بالا
2/27	2/4	2/53	آب مقطر
0/65	0/52	0/39	محلول استوک اکریل آمید
0/05	0/05	0/05	محلول آمونیوم پرسولفات 10 درصد
0/03	0/03	0/03	محلول TEMED 10 درصد

پس از تهیه ی ژل های پایین و بالا، شانه و فاصله انداز پایین را جدا نموده و قالب شیشه ای را در تانک قرار دهید. در کیت دو بافر نمونه (5X) برای الکتروفورز در شرایط احیایی یا غیر احیایی قرار داده شده است که امکان الکتروفورز در هر دو شرایط را فراهم می نماید.

توجه: مونومر اکریل آمید نورو توکسین و سرطانزا است. از اینرو ساخت محلول های آن به شرایط ویژه ای نیازمند است. از استنشاق پودر اکریل آمید در حین توزین یا تماس با محلول های آن احتراز شود.

این کیت فقط برای مصرف آزمایشگاهی است.

www.razibiotech.com

info@razibiotech.com