



# 一步法PAGE凝胶制备试剂盒

Cat.NO.: ZD304F

## 产品组成:

试剂盒组成	ZD304F (125次)	货号规格
分离胶A液(2×)	250ml	ZD304F-8 可制备125块8%的mini胶 (0.75mm)
分离胶B液(2×)	250ml	
浓缩胶A液(2×)	80ml	ZD304F-10 可制备125块10%的mini胶 (0.75mm)
浓缩胶B液(2×)	80ml	ZD304F-12 可制备125块12%的mini胶 (0.75mm)
AP促凝剂	10ml	ZD304F-15 可制备125块15%的mini胶 (0.75mm)
说明书	一份	

## 产品简介:

本产品为一步法PAGE凝胶的预混配方。产品只需要1:1添加后，再加入催化剂---AP促凝剂，且支持一步灌胶，无需等待分离胶凝固再灌浓缩胶；浓缩胶已添加紫红色染料，使上样孔更清晰，方便点样。制备的凝胶与传统Tris-甘氨酸电泳液完美兼容，也与MOPS电泳液兼容，且电泳方法一致。配合10×超快电泳液（ZS321）使用可达到类梯度胶的效果。

## 储存条件:

常温保存1年。

**AP促凝剂:** 收到为固体粉末，使用时需加入10ml去离子水溶解，溶解后可放4°C，3个月内有效；若长期保存，可分装成0.5ml或一天内使用量小管于-20°C保存，一年内有效。促凝剂粉末可以室温长期保持，潮解会完全失活，务必密封保存。

## 产品特点:

**简单快速:** 只需要1:1添加即可；一步灌胶，无需等待分离胶凝固。

**避免异味:** 无需添加TEMED。

## 制作流程: (以一块 0.75/ 1.0/ 1.5 mm 的 mini 胶为例)

**A 准备:** 清洗并组装好制胶槽

### B 制备分离胶

- 等体积混合:** 取等体积 分离胶A液 和 分离胶B液，即各 1.8/ 2.5/ 3.5 ml，共3.6/5/7ml胶；
- 加入聚合催化剂:** 按1/100比例加入36/ 50/ 70  $\mu$ l 的AP促凝剂，混匀；
- 灌胶:** 将混合溶液注入制胶玻璃板中。

注: 本试剂盒可以一步灌胶，不用等待分离胶凝固，紧接着灌浓缩胶即可。如要采用分步制胶亦可，加入适量水或醇（如异丙醇、正丁醇等）覆盖于下层胶之上，等待凝固；

### C 制备浓缩胶

- 等体积混合:** 取等体积 浓缩胶A液 和 浓缩胶B液 混匀，即取两种溶液各 0.5/ 0.75/ 1 ml。
- 加入聚合催化剂:** 按1/100比例加入 10/ 15/ 20  $\mu$ l 的 AP促凝剂，混匀。
- 灌胶:** 从左到右缓慢注入制胶玻璃板中，插入梳齿；

注: 灌胶一定要轻柔，避免上层胶冲入下层；建议不要在一个位置加注浓缩胶，避免不均匀；上下层胶灌注间隔不要过长，避免下层胶凝固过快导致胶面出现波浪形；若凝胶速度过快，可以减半加入促凝剂。

- 待胶凝固后，拔去梳齿即可用于电泳。注意: 请尽量使用新鲜配制的电泳缓冲液。

### 凝胶电泳：

使用Tris-甘氨酸电泳液，推荐电泳条件：设定电压80V，电泳约30分钟，样品进入分离胶后，调整电压至120V，约1小时后，样品电泳至凝胶底部，停止电泳；也可以160V恒压电泳1小时左右。若使用快速电泳缓冲液（ZS321），可以恒压220V电泳30分钟左右。

### 常见问题及解决办法：

常见问题	可能的原因	建议解决办法
1、凝胶速度太快	AP促凝剂用量过多	客户可根据实际情况调整过AP促凝剂
2、凝胶速度慢或不凝固	①AP促凝剂失效 ②凝胶过程中频繁晃动	①可增加AP促凝剂用量，当增加AP促凝剂用量后，凝胶时间仍超过30min，建议更换AP促凝剂 ②凝胶过程中不要晃动凝胶模具
3、浓缩胶和分离胶界面不齐	①灌胶方法不对 ②凝胶模具有轻微漏胶	①轻缓，从左到右缓慢加注 ②制胶前检测模具是否漏水
4、胶凝固后高度变低	①凝胶模具底部漏胶 ②封边用的水或醇体积过多	①制胶前检测模具是否漏水 ②用0.5-1ml体积的水或醇封边，勿多用
5、条带呈笑脸状	①胶中心部分凝固不完全 ②电泳电压过大	①延长凝固时间，表面凝固不代表中间凝固 ②电泳电压一般推荐为80-120v
6、条带拖尾或有竖向纹理	样品溶解不完全，有不溶颗粒 或样品中盐离子成分过多	上样前将样品离心，或将蛋白透析后再电泳
7、蛋白有横向扩散	蛋白上样量过大	降低上样量