



一步法PAGE免染凝胶制备试剂盒

Cat.NO.: ZD304G

产品组成:

试剂盒组成	ZD304G (125次)	货号规格
分离胶A液(2×)	250ml	ZD304G-8 可制备125块8%的mini胶 (0.75mm)
免染分离胶B液(2×)	250ml	
浓缩胶A液(2×)	80ml	ZD304G-10 可制备125块10%的mini胶 (0.75mm)
免染浓缩胶B液(2×)	80ml	ZD304G-12 可制备125块12%的mini胶 (0.75mm)
AP促凝剂	10ml	
红色染料	1ml	ZD304G-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; 制备的凝胶蛋白电泳后, 紫外光照射3-5min, 即可显色蛋白条带。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; 此浓缩胶可以添加染料, 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, 且电泳方法一致。

紫外照射下, 胶中的显色剂与蛋白作用, 形成在紫外光下发射蓝绿光的基团, 即紫外光下呈现蓝绿光的蛋白条带。此快速成像的功能非常方便wb等实验快速定量总蛋白内参, 且显色后可继续下游的wb实验, 有别于考马斯亮蓝染色后无法进行wb实验。需要紫外凝胶成像仪, 例如常用的核酸成像仪等。

储存条件:

室温保存一年; 室温运输。

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: 无需复杂配制, 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: 无需使用TEMED。

快速显色: 紫外照射几分钟后, 即可显色蛋白条带, 方便wb等实验快速定量总蛋白内参。

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

1. 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;
2. 加入聚合催化剂: 按1/100比例加入36/ 50/ 70 μl 的 AP促凝剂溶液, 混匀;
3. 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

1. 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。
2. 浓缩胶添加染料(可选步骤): 加入1/1.5/2ul染料, 混匀。(此红色染料为小分子染料, 实验验证不会影响电泳和后续实验)

3. 加入聚合催化剂：按1/100比例加入 10/ 15/ 20 μ l 的 AP促凝剂溶液，混匀。

注：制备分离胶和浓缩时，试剂A、B、AP促凝剂、红色染料一起加入，再混匀亦可。

4. 灌胶：从左到右缓慢注入制胶玻璃板中，插入梳齿；

注：灌胶一定要轻缓，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。

5. 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。

凝胶电泳与紫外观察：

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。

观察条带：正常电泳结束后，用双蒸水漂洗凝胶，并尽快在紫外照胶仪中紫外照射1-10min，一般5min即可达到最亮，调整曝光时间2S，采集图像。

紫外显色注意事项：

① 蛋白条带亮度和蛋白质氨基酸残基数量和类型有关，故某些蛋白质亮度可能会比传统考马斯亮蓝染色亮度低，属正常现象。

② 长时间紫外照射会产生大量能量，导致凝胶边缘脱水干燥，建议照胶时在凝胶附近滴一些双蒸水保持湿润。

③ 紫外照射前，在双蒸水中浸泡，务必不超过5min；因胶中的染色剂为水溶性的，会因长时间浸泡而稀释掉，照射显色后可以长期浸泡。

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AP促凝剂用量
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