

一步法PAGE凝胶制备试剂盒（非固定浓度型）

Cat.NO.: ZD304H

产品组成：

试剂盒组成	ZD304H(125次)	货号规格
分离胶A液(2×)	250ml	说明：试剂盒按照制备125块最大浓度15%的mini胶（0.75mm）配置相关试剂。大量配置其它浓度胶会出现30%制胶液多余，属于正常现象。您可以单独定制各个组分。
30%制胶液	250ml	
浓缩胶A液(2×)	80ml	
浓缩胶B液(2×)	80ml	
10%促凝剂	10ml	
红色染料	1ml	
说明书	一份	

产品简介：

本产品为一步法PAGE凝胶的预混配方。产品支持客户按需要制备4-15%之间任一浓度分离胶，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。

储存条件：

室温保存一年；室温运输。

10%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℃，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℃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。

方便：制胶浓度4-15%都可以。非固定浓度制胶试剂盒。

避免异味：无需使用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 0.75/ 1.0/ 1.5 mm 的 mini 胶，通常制胶量分别为 3.6/5/7ml。

以下表格以配置10ml胶为例，其它配置量按照比例计算后添加。

	分离胶A液(2×)	30%制胶液	ddH2O	加入聚合催化剂
6%分离胶	5ml	2ml	3ml	按1/100比例加入 10%促凝剂溶液，即100ul，混匀； 推荐最后加入此组分。
8%分离胶	5ml	2.67ml	2.33ml	
10%分离胶	5ml	3.33ml	1.67ml	
12%分离胶	5ml	4ml	1ml	
15%分离胶	5ml	5ml	0	

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 10%促凝剂溶液，混匀。

注：制备分离胶和浓缩时，试剂A、B、10%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：

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。

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	10%促凝剂用量过多	客户可根据实际情况调整10%促凝剂用量
2、凝胶速度慢或不凝固	①10%促凝剂失效 ②凝胶过程中频繁晃动	①可增加10%促凝剂用量，当增加10%促凝剂用量后，凝胶时间仍超过30min，建议更换10%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