



一步法SDS-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)
10%过硫酸铵	10ml	ZD304G-15 可制备125块15%的mini胶 (0.75mm)
红色染料	1ml	
说明书	一份	

产品简介:

本产品为一步法SDS-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---过硫酸铵,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:

4°C保存;室温运输。

10%过硫酸铵:加10ml双蒸水配制为10%溶液。务必分装成0.5ml或一天内使用量的小管-20°C保存,短期可暂时放4°C;通常冻存状态下一年内有效。过硫酸铵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 μ l的10%过硫酸铵溶液,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2/3/4 μ l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%过硫酸铵溶液，混匀。
注：制备分离胶和浓缩时，试剂A、B、10%过硫酸铵、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，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。

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	过硫酸铵用量过多	客户可根据实际情况调整过硫酸铵用量
2、凝胶速度慢或不凝固	①过硫酸铵失效 ②凝胶过程中频繁晃动	①可增加过硫酸铵用量，当增加过硫酸铵用量后，凝胶时间仍超过30min，建议更换过硫酸铵 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