



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 | |
| AP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。

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℃, 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 AP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 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：

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 | 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 |