

一步法 PAGE 凝胶快速制备试剂盒（大分子款 35-270KD）

产品详情

目录号	WD100044
产品规格	100 块胶(1.0 mm 胶)
保存方法	4℃，12 个月（其中改良型促凝剂 4℃，3 个月，-20℃，一年）

产品简介

本产品采用上层胶和下层胶的预混配方，只需加入 **改良型促凝剂 (10%APS substitute)** 即可凝胶，灌入下层胶混合液后，可以无需等待凝胶，直接加入上层胶混合液插上梳子即可，简便快捷。所配的上层胶带有颜色，方便点样。本试剂盒配制的凝胶也可用于非变性 PAGE 凝胶电泳。常用款可以将 20kd-150kd 蛋白均匀的分，大分子款适合分离 35kd-270kd 大小蛋白，小分子款适合分离 6.5kd-75kd 大小蛋白。

本产品配套提供 **改良型促凝剂**，其具有更好的稳定性和催化效能，配胶过程中无需额外添加 TEMED。为方便操作，已开盖的改良型促凝剂可置于 4℃保存至少 3 个月,经常使用的话，放在 4℃即可，-20℃保存的话，至少可保存一年。

产品清单

产品编号	产品名称	规格
1	下层胶溶液 A（大分子款 35-270KD）	250ml
2	下层胶缓冲液 B（大分子款 35-270KD）	250ml
3	上层胶溶液 C	75ml
4	上层胶缓冲液 D	75ml
5	10%APS substitute（改良型促凝剂）	7x1ml
——	说明书	一份

产品特点

- 一步法配胶**——上下层胶都是 1:1 混匀配制，可以无需等待下层胶凝固；
- 避免异味**——无需使用 TEMED，避免恶臭气味；
- 易区分加样孔**——上层胶含有色素，易区分加样孔，方便加样，不影响蛋白电泳；
- 蛋白分离效果好**——大分子款可以将 35kd-270kd 蛋白均匀的分，手工配出梯度胶的效果，比传统固定浓度胶最佳分离范围更宽，条带分布更美观。

使用方法

制胶流程(以一块 0.75/1.0/1.5 mm 的 mini 胶为例):

1. 用 50ml 离心管取等体积 **下层胶溶液 A** 和 **下层胶缓冲液 B** , 各 2.0/2.5/4.0mL, 混匀;
2. 用 15ml 离心管取等体积 **上层胶溶液 C** 和 **上层胶缓冲液 D** , 各 0.5/0.75/1.0mL, 混匀;
注意: 上下层胶一起配是防止下层胶凝固了, 而上层胶还没配好。
3. 向步骤 1 的**下层胶混合溶液**中加入 40/50/80 μ L 的 改良型促凝剂 , 轻轻混匀, 将混匀后的溶液注入制胶玻璃板中, 使液面距离电泳梳齿下端 0.5 cm 左右即可。
注意: 配制下层胶溶液为过量, 请勿全部注入。
4. 向步骤 2 的**上层胶混合溶液**中加入 10/15/20 μ L 的 改良型促凝剂 , 轻轻混匀, 无需等待下层胶凝固, 即可将混匀后的溶液用移液枪吸取, 贴着玻璃板中间处固定不动缓慢滴加, 由于上层胶密度小, 会自动均匀流向两边, 插入梳齿。凝固后上下层胶分界线以及平整度略弱于传统两步法配的胶, 但对后续电泳没有影响, 放心使用。此配制量也是稍微过量的, 不用全部加入。
注意: 枪头贴着玻璃板中间处缓慢滴加即可, 减小对下层胶的冲击, 插入梳齿后, 由于上层胶溶液密度小, 会自动平衡均匀为一条线, 不用担心。(一步法配胶要求制胶工具密封性要好, 有些玻璃板或者制胶架子老化, 会发生缓慢漏液, 可分成两步法配胶, 两步法即下层胶注入玻璃板后加入适量乙醇或者水覆盖于下层胶之上, 待下层胶凝固后(约 15min), 倒去上层乙醇或者水再配上层胶注入后插上电泳梳即可。)
5. 待胶凝固后(约 20 min), 即可用于电泳实验。推荐电泳条件为: 全程 120V 不用调电压, 约 70-80 min。

下层胶配制				上层胶配制			
凝胶厚度	下层胶溶液 A	下层胶缓冲液 B	改良型促凝剂	凝胶厚度	上层胶溶液 C	上层胶缓冲液 D	改良型促凝剂
0.75mm	2.0ml	2.0ml	40uL	0.75mm	0.5ml	0.5ml	10uL
1.00mm	2.5ml	2.5ml	50uL	1.00mm	0.75ml	0.75ml	15uL
1.5mm	4.0ml	4.0ml	80uL	1.5mm	1.0ml	1.0ml	20uL

注意事项

1. 本产品制备出的凝胶其上层胶对样品没有浓缩效应, 与预制胶类似, 但与传统 PAGE 胶相比, 对蛋白条带分离效果更好, 小分子量蛋白也可以清晰的分离开, 且条带更锐利。
2. 在配胶之前, 使胶溶液及缓冲液平衡到室温(如室温放置几分钟或用两步法配胶), 可有效避免凝胶中气泡的形成。
3. 本公司常用款胶的浓度为 10%, 大分子款胶的浓度为 7.5%, 小分子款胶的浓度为 12%, 作为转膜参考用。
4. 凝胶速度与温度有显著的正相关性。同等条件下, 温度越高, 凝胶速度越快, 室温过高时建议适当减小改良型促凝剂的用量; 相反, 如果室温较低, 可适当延长凝胶时间。
5. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作, 本产品仅限科研使用。