

一步法免染PAGE凝胶制备试剂盒（12%）

产品货号：BA3062

产品规格：125T

产品组成：

产品名称	规格	保存条件
上层胶制胶液（2×）	80mL	2-8°C
彩色上层胶缓冲液（2×）	80mL	2-8°C
下层胶制胶液（2×）	125mL×2	2-8°C
下层胶缓冲液（2×）	125mL×2	2-8°C
改良型促凝剂（干粉）	5mL×2	室温

产品特点：

- 紫外成像：**无需染胶，紫外曝光3-5min后，可实现250ng以上总蛋白的可视化。
- 一步法制胶：**灌入下层胶混合液后无需液封等待其凝固，可直接灌入上层胶混合液，实现一步法快速制胶，室温约15min后即可电泳。
- 操作简单：**上下层胶均由两种溶液组成，按1:1两两混合后，加入改良型促凝剂即可。
- 彩色上层胶：**上层胶中分别加入红、绿、蓝染料，方便点样和区分不同浓度凝胶。
- 避免异味：**无需添加TEMED，避免恶臭气味。
- 条带清晰：**5种不同浓度的蛋白凝胶预混液制胶、电泳，均可观察到清晰的条带。
- 稳定促凝：**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。

操作步骤：（以一块0.75mm/1.00mm/1.50mm厚胶为例）

- 在装有促凝剂干粉的瓶子中加入5mL/支的ddH₂O，充分溶解混匀后即为改良型促凝剂。
- 取等体积2×下层胶制胶液和2×下层胶缓冲液各2.0mL/2.7mL/4.0mL，轻轻混匀。
- 取等体积2×上层胶制胶液和2×彩色上层胶缓冲液各0.5mL/0.75mL/1.0mL，轻轻混匀。
注：由于染料的特殊理化性质，使用前请将上层胶缓冲液摇匀。
- 向步骤2中加入40/60/80μL的改良型促凝剂，向步骤3中加入10/15/20μL的改良型促凝剂，手动混匀（避免气泡产生）。
注：促凝剂加入后约3-5分钟开始凝固，如同时制作多块胶请酌情调整促凝剂的加入时间。
- 先将下层胶混合液注入模具，加至距前玻璃板顶端约1.5cm或距梳齿0.5cm即可。轻轻振动制胶架，驱赶气泡以使液面平齐。
- 立即动作轻缓地、沿长玻璃板从左向右少量多次地加入上层胶混合液，之后插入梳子。
注：上下层胶液的建议配制体积均为过量，灌胶结束后试管中会留少许以判断凝胶状态。
- 室温静置约15min，待凝胶聚合后，小心拔出梳子，避免破坏加样孔。
注：凝胶聚合后，上下层胶的分界线平整度可能略低于两步法制胶，但对后续电泳没有影响。

下层胶配方			
凝胶厚度	2×下层制胶液	2×下层胶缓冲液	改良型促凝剂
0.75mm	2.0mL	2.0mL	40μL
1.00mm	2.7mL	2.7mL	60μL
1.50mm	4.0mL	4.0mL	80μL

上层胶配方			
-------	--	--	--



郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

扫一扫 加微信

凝胶厚度	2×上层胶制胶液	2×上层胶缓冲液	改良型促凝剂
0.75mm	0.5mL	0.5mL	10μL
1.00mm	0.75mL	0.75mL	15μL
1.50mm	1.0mL	1.0mL	20μL

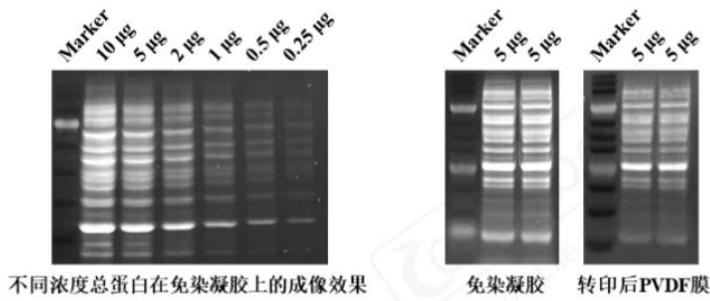
8. 进行常规电泳操作，根据电泳液的使用条件设置电泳条件。使用传统的 Tris-甘氨酸电泳液推荐电泳条件为：初始电压 80V，约 30min，样品进入分离胶后，电压 120V，约 1h；或者电压 150V，约 60min。样品抵达凝胶底部停止电泳。
9. 电泳结束后，即可将凝胶从玻璃板中取出，将裸胶放入 ddH₂O 中漂洗 2-3 次，放在干净的凝胶成像仪载物台上，紫外成像。

注：成像参数设置，以伯乐设备为例，选择蛋白胶成像 Stain Free 功能，设置紫外激活 1min，自动曝光。为避免长时间激活使 SDS-PAGE 胶变干，建议胶上喷少许 ddH₂O 保持 PAGE 胶湿润。对于不具备 Stain Free 功能的凝胶成像仪，可先手动设置 302nm 波段的紫外激发 5min 左右，然后选择核酸成像模式，曝光时间选择 10s 左右。

注意事项：

1. 电泳过程中，蛋白 Marker 在浓缩胶内就开始分离属于正常现象，与电压、电泳缓冲液、蛋白 Marker 特性等因素有关，不影响电泳分离效果及目的蛋白分子量判断。
2. 促凝剂干粉可在常温存储，溶液 3 个月内重复使用可在 4°C 保存，长期存放于-20°C 保存。
3. **PAGE 胶的凝聚速度与温度有显著的正相关性，温度越低凝胶速度越慢，反之亦然。室温在低于 20°C 时，建议增加 50-100% 的促凝剂用量；室温高于 28°C 时，建议减少相应用量。**
4. 在配胶之前，将制胶液及缓冲液在室温放置几分钟，可有效避免凝胶中气泡的形成。
5. 紫外激发显色需要一定时间，一般 3min 左右可看到清晰条带，10min 后达到最大亮度。若要观察凝胶转印后膜上蛋白条带，必须在电泳后，先将凝胶经紫外激发出现清晰条带后，再进行转膜。若直接转膜再用紫外激发，荧光信号会很弱或无信号。
6. 紫外线穿透能力弱，胶与载物台之间不可有玻璃、薄膜或透明塑料隔板等。

结果分析：



注：左图为10%免染PAGE胶在紫外凝胶成像仪下照射5min，曝光10s拍摄的图像。右图为相同条件下拍摄的免染凝胶，以及转印后PVDF膜的成像效果。预染Marker：DM2616，10-180 kD，10条带。

有效期：

常温运输；制胶组分2-8°C保存，保质期12个月；改良型促凝剂粉末常温保质期3年，溶解后2-8°C保质期3个月，-20°C保质期12个月。



郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

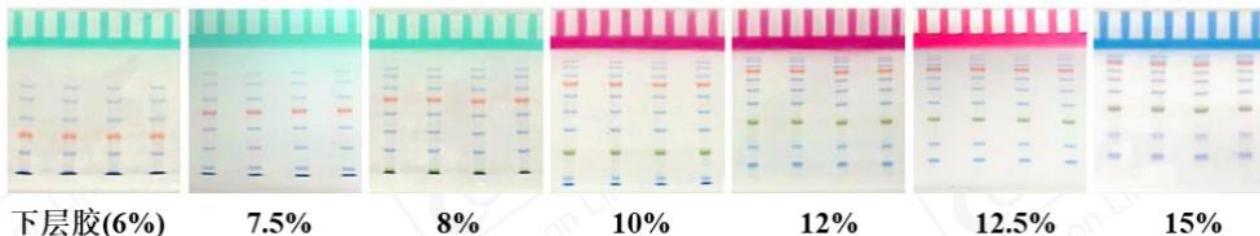
免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

扫一扫 加微信

附表 1.PAGE分离胶的浓度与最佳分离范围:



SDS-PAGE 分离胶浓度	分离范围
6%	50-150 kD
7.5%	20-120 kD
8%	30-90 kD
10%	20-80 kD
12%	12-60 kD
12.5%	15-60 kD
15%	10-40 kD

附表 2.常见问题与解决建议:

常见问题	建议
成胶速度慢或不成胶	增加50-100%的促凝剂用量，若仍不成胶需更换促凝剂
浓缩胶与分离胶界面不齐	注入下层胶后缓慢注入上层胶，或检查模具是否漏液
胶孔内有残胶	需使用配套玻璃板和制胶梳（不同厂家的梳子薄厚有细微差别）； 插入制胶梳前先润湿制胶梳； 可吸取电泳液吹打点样孔，去除孔内残胶。
条带拖尾或有竖纹	蛋白样品需离心去除不溶物或透析除盐
条带呈笑脸型	延长凝胶时间或适当降低电泳电压
条带横向扩散	减少上样量



郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

扫一扫 加微信