Order: 010-62617225
Technical: 010-62979301
Email: zomanbio@126.com

ZOMANBIO

本产品仅供科研使用. 请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

版本：2023/07/17

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	ZD304G-10	可制备125块10%的mini胶（0.75mm）
浓缩胶A液(2×)	80ml	ZD304G-12	可制备125块12%的mini胶（0.75mm）
免染浓缩胶B液(2×)	80ml	ZD304G-15	可制备125块15%的mini胶（0.75mm）
10%过硫酸铵	10ml		
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℃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℃保存，短期可暂时放4℃；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。

ZOMANBIO

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 μl 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2/3/4ul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 μl 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，并尽快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。

③ 紫外照射前，在双蒸水中浸泡，务必不超过5min；因胶中的染色剂为水溶性的，会因长时间浸泡而稀释掉，照射显色后可以长期浸泡。

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

ZOMANBIO