

产品概述

本产品适用于 Tris-甘氨酸电泳体系, 采用上层胶和下层胶的预混配方, 只需加入改良型促凝剂即可凝胶, 简便快捷。所配的上层胶带有蓝色, 点样孔清晰易辨, 方便点样。蓝色浓缩胶可用于区分含不同样品的凝胶。本产品配套提供改良型促凝剂, 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。

试剂组成

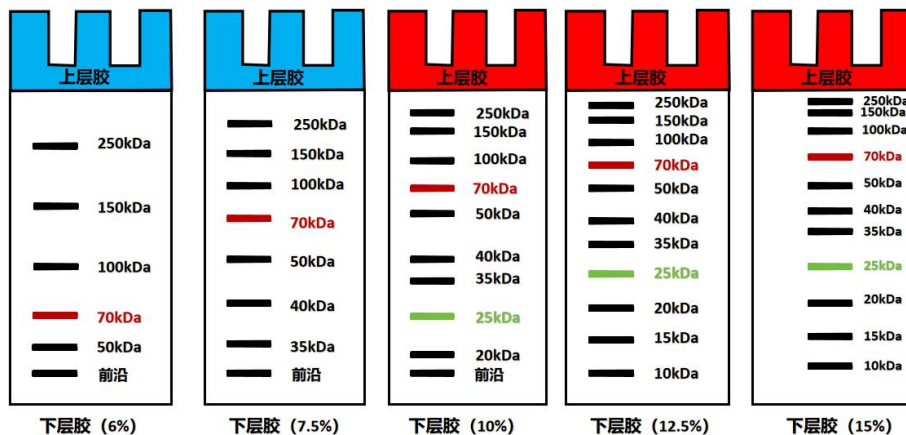
Components	BR4C332-01 125 gels (0.75 mm)
Stacking Gel Solution (2×)	80 mL
Blue Stacking Gel Buffer (2×)	80 mL
Separating Gel Solution 7.5% (2×)	250 mL
Separating Gel Buffer 7.5% (2×)	250 mL
Improved Coagulant	8 mL

保存条件

改良型促凝剂 Improved Coagulant 于-20±5℃存储, 其余试剂于 2-8℃存储。

注意事项

1. 本产品仅作科研用途, 不用于临床诊断。
2. 改良型促凝剂的使用量仅作参考, 实际用量可根据个人实验习惯和经验调整。加入较多量的促凝剂可加速凝胶, 反之亦然。PAGE 凝胶的凝聚速度与温度和促凝剂的用量密切相关。
3. 不同浓度试剂盒各组份请勿混用, 否则会影响制胶及电泳效果。
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. 本产品已加入适量 TEMED 的替代品, 如需进一步加速凝胶, 临配胶前可按需补充适量 TEMED。
6. 推荐电泳条件为: 150 V, 约 60 min, 或 200 V, 约 45 min。
7. 为方便操作, 已开盖使用中的改良型促凝剂可置于 4℃保存至少三个月。
8. 建议配胶时不要一次性配置太多块胶, 避免来不及添加上层胶 (推荐最多 2-3 块)。
9. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
10. 建议参考下图选择合适的凝胶浓度。参考下图蛋白分子量标准 (10-250 kDa) 在不同浓度 SDS-PAGE 凝胶中的分离示意图。因温度、pH 值等因素不同, 实际分离情况会略有出入, 本图仅供参考。



实验流程

以一块 0.75/1.0/1.5 mm 的胶为例

1. 取等体积下层胶溶液和下层胶缓冲液, 各 2.0/2.7/4.0 mL 混匀, 取等体积上层胶溶液和彩色上层胶缓冲液, 各 0.5/0.75/1.0 mL 混匀。具体配胶体积如下表:

下层胶配方			
凝胶厚度	Separating Gel Solution 7.5% (2×)	Separating Gel Buffer 7.5% (2×)	Improved Coagulant
0.75 mm	2.0 mL	2.0 mL	40 μL
1.0 mm	2.7 mL	2.7 mL	55 μL
1.5 mm	4.0 mL	4.0 mL	80 μL
上层胶配方			
凝胶厚度	Stacking Gel Solution (2×)	Blue Stacking Gel Buffer (2×)	Improved Coagulant
0.75 mm	0.5 mL	0.5 mL	10 μL
1.0 mm	0.75 mL	0.75 mL	15 μL
1.5 mm	1.0 mL	1.0 mL	20 μL

注意: 由于染料特殊理化性质, 使用前请混匀。

2. 向步骤 1 的混合溶液中加入 40/55/80 μL 的改良型促凝剂, 轻轻混匀 (凝固太快可减半改良型促凝剂使用量), 将混匀后的溶液注入制胶玻璃板中, 使液面和短玻璃板上沿之间的距离比梳齿长 0.5 cm 即可。

注意: 此溶液为过量, 请勿全部注入; 加入改良型促凝剂后, 需轻柔混匀, 防止过多氧气混入胶溶液, 抑制凝胶聚合。

3. 向步骤 2 的混合溶液中加入 10/15/20 μL 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轻缓注入制胶玻璃板中, 插入梳齿; 这一步需要在灌完下层胶后 2 min 内进行灌胶, 也可以采用传统方式, 用无水乙醇封闭之后再行配置上层胶。

注意: ① 灌注上层胶溶液一定要轻缓, 避免将上层胶溶液冲入下层胶, 上层胶溶液注入后, 轻轻振动制胶架, 即可使上下层胶分界线平齐; 加入改良型促凝剂后, 需轻柔混匀, 防止过多氧气混入胶溶液, 抑制凝胶聚合。

4. 待胶凝固后 (约 15 min), 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; 即使胶凝固后上下层胶分界线平整度略低, 后续电泳也不会受到影响。