# 一步法彩色 PAGE 凝胶快速制备试剂盒（Tris-Glycine）
# One-Step Colored PAGE Gel Fast Preparation Kit

## 产品种类

| 产品货号 | 产品名称 | 产品规格 | 胶浓度 | 推荐电压 |
|---|---|---|---|---|
| SKV-0054 | 一步法彩色 PAGE 凝胶快速制备试剂盒 8% 可配 100 块 1.0 mm 胶 | 100T | 8% | 80-100V |
| SKV-0055 | 一步法彩色 PAGE 凝胶快速制备试剂盒 10% 可配 100 块 1.0 mm 胶 | 100T | 10% | 120-140V |
| SKV-0056 | 一步法彩色 PAGE 凝胶快速制备试剂盒 12% 可配 100 块 1.0 mm 胶 | 100T | 12% | 120-140V |
| SKV-0057 | 一步法彩色 PAGE 凝胶快速制备试剂盒 15% 可配 100 块 1.0 mm 胶 | 100T | 15% | 120-140V |
| SKV-0058 | 一步法彩色 PAGE 凝胶快速制备试剂盒 6% 可配 100 块 1.0mm 胶 | 100T | 6% | 80-100V |

## 产品介绍

圣尔彩色 PAGE 凝胶预混液系统采用上层胶和下层胶的预混配方，**只需加入促凝剂**即可凝胶，无需额外添加 TEMED。配制的上层胶带有颜色，方便点样。本试剂盒不含 SDS，灌制的凝胶即可用于变性 PAGE 凝胶电泳也可用于非变性 PAGE 凝胶电泳。本试剂盒可配制 125 块 mini PAGE 胶（以 0.75mm 厚度胶计算）。**另外本产品配置的 PAGE 凝胶转膜时，转膜液中无需添加甲醇或乙醇，避免有机溶剂对身体的危害**。

## 产品组分

| 组分 | 产品体积 | 保存条件 |
|---|---|---|
| 上层胶溶液 | 80ml | 2~8℃ |
| 上层胶缓冲液 | 80ml | |
| 下层胶溶液 | 250ml | |
| 下层胶缓冲液 | 250ml | |
| 新型促凝剂 | 8ml | -20℃保存，可在 2~8℃保存至少 3 个月 |

## 适用范围

本产品适用于聚丙烯酰胺凝胶的制备，灌制的凝胶可用于变性或非变性 PAGE 凝胶电泳。

## 实验流程

**一步法制胶流程**(以一块 0.75/1.0/1.5 mm 的 mini 胶为例)

(1) 各组分在使用前请颠倒混匀。
(2) 下层胶配制：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。
(3) 上层胶配制：取等体积上层胶溶液和上层胶缓冲液，各 0.5/0.75/1.0 ml，混匀。
(4) 向步骤 2 的混合溶液中加入 40/60/80 μl 的促凝剂，立即充分混匀，然后注入制胶玻璃板中，使液面距短玻璃板上沿约 1.5 cm 即可（此溶液为过量，请勿全部注入）。**注意**：混匀操作避免剧烈振荡，在灌注的过程中避免将气泡灌入制胶玻璃板中。
**(5)** 向步骤 3 的混合溶液中加入 10/15/20 μl 的促凝剂，立即充分混匀，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，轻轻插入梳齿。**注意：灌注上层胶溶液可沿着长玻璃板轻缓注入，避免将下层胶冲散。**
(6) 待胶凝固后(室温约 15-20 min)，拔去梳齿即可用于电泳。

**注意**：①请尽量使用新鲜配制的电泳缓冲液。② 胶凝固后上下层胶分界线平整度略弱于传统方法配的胶，但对后续电泳没有影响。

**两步法制胶流程**(以一块 0.75/1.0/1.5 mm 的 mini 胶为例)

1. 各组分在使用前请颠倒混匀。
2. 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；
3. 向步骤 2 的混合溶液中加入 40/60/80 μL 的促凝剂，混匀；
4. 将步骤 3 的混合溶液注入制胶玻璃板中，使液面距短玻璃板上沿约 1.5 cm 即可 (注意：此溶液为过量，请勿全部注入，可留少许于配胶杯中，以判断胶凝固状况)，加入适量水或醇(如异丙醇、正丁醇等)覆盖于下层胶之上；

5. 待下层胶凝固后(约 15-20 min)，倒去上层水或醇；

   **注意：**当水(醇)和胶之间有一条折射线时，说明胶已凝固；

6. 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；
7. 向步骤 6 的混合溶液中加入 10/15/20 μL 的促凝剂，混匀；
8. 将步骤 7 的混合溶液注入制胶玻璃板中，插入梳齿；
9. 待上层胶凝固后(约 15-20 min)，拔去梳齿即可用于电泳。

**具体加样量以制备一块 0.75/1.0/1.5 mm 的 mini 胶为例**

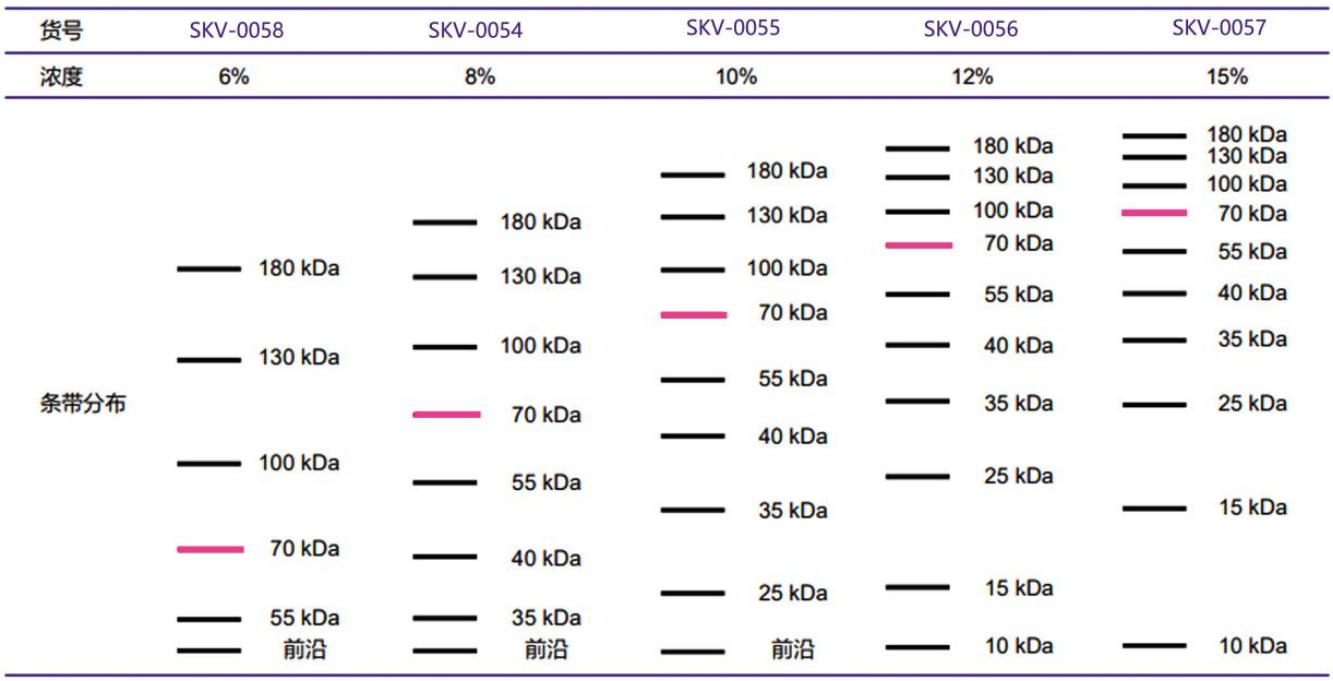
| 下层胶配方 | | | |
|---|---|---|---|
| 凝胶厚度 | 下层胶溶液 | 下层胶缓冲液 | 促凝剂 |
| 0.75 mm | 2.0 ml | 2.0 ml | 40 μl |
| 1.0 mm | 2.7 ml | 2.7 ml | 60 μl |
| 1.5 mm | 4.0 ml | 4.0 ml | 80 μl |

| 上层胶配方 | | | |
|---|---|---|---|
| 凝胶厚度 | 上层胶溶液 | 上层胶缓冲液 | 促凝剂 |
| 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(比如 10 kDa)也可以清晰地分离开，且蛋白条带更窄更锐利；
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；
3) 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新型促凝剂的用量；相反，**如果室温较低，可适当延长凝胶时间**；
4) 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；
5) 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)，可有效避免凝胶中气泡的形成；
6) 请根据胶浓度选择合适的电压，例 10%浓度的胶，130 V，电泳时长约 60 min（电压过高产热会加大，为保证电泳稳定性，建议不要超推荐电压电泳）；
7) **推荐湿转恒流 400mA 转膜 40min**。为达到更好的转膜效果，可以根据预制胶上残留的预染 marker 及膜上的预染 marker 确定转膜效率，并对转膜条件进行适当调整。目的蛋白的分子量，凝胶浓度等都会影响转膜效率。大蛋白尽量选择低浓度的胶。**转膜液中可以不添加甲醇/乙醇**；
8) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作；
9) 本产品仅限科研使用。

## 凝胶浓度选择参考




以上为Tris-Glycine-SDS缓冲系统中180 kDa Prestained Protein Marker (圣尔#SB-WB009) 在不同浓度PAGE凝胶中的电泳结果示意图，此图仅供参考。