

ePAGE-Quick 一步法免染彩色凝胶快速制备试剂盒

货号	制备胶的数量	成分名称	规格大小
PN4010 (制备6%的ePAGE)	125块 (0.75mm胶) 或 >90块 (1.00mm胶) 或 >60块 (1.50mm胶)	上层胶溶液 (2X)	80m l
PN4011 (制备7.5%的ePAGE)		彩色上层胶缓冲液 (2X)	80m l
PN4012 (制备10%的ePAGE)		下层胶溶液 (2X)	250m l
PN4013 (制备12.5%的ePAGE)		下层胶缓冲液 (2X)	250m l
PN4014 (制备15%的ePAGE)		改进型促凝剂	8m l

产品介绍

ePAGE-Quick 一步法免染彩色凝胶快速制备试剂盒制备的凝胶是免染 PAGE 胶，蛋白条带紫外曝光即可成像，无需染胶。该试剂盒是一种采用上层胶和下层胶的新型预混液，在传统凝胶配方基础上进行了优化，仅需加入改进型促凝剂即可制胶，无需加 TEMED，避免恶臭气味。不仅简化和缩短凝胶配制步骤和时间，而且兼容传统的 Laemmli 体系中的 Tris-Glycine 电泳缓冲液，可以在高电压下快速完成蛋白电泳。在不同浓度胶体系中，上层胶的缓冲液中加入了颜色指示剂，使加样孔清晰可见，方便加样。**本试剂盒也可用于非变性 PAGE 凝胶电泳。**

产品特色

- 无需染胶，可以在紫外曝光下呈现蛋白条带
- 一步法制胶，灌制下层胶后直接注入上层胶，无需液封
- 仅需加入改进型促凝剂即可，无需加 TEMED，避免恶臭气味。制备彩色的上层胶，胶孔清晰可辨，方便加样
- 缩短凝胶电泳时间，150V 条件下，60 分钟左右即可完成电泳
- 兼容传统的 Tris-Glycine 电泳缓冲液，稳定性好，分辨率高，条带更加清晰

操作步骤

(以一块 0.75/1.0/1.5mm 的 mini 胶为例)

1. 分别量取等体积的下层胶溶液和下层胶缓冲液，各 2.0/2.7/4.0 ml，混匀。
2. 分别量取等体积的上层胶溶液和彩色上层胶缓冲液，各 0.5/0.75/1.0 ml，轻柔混匀
3. 向步骤 1 的混合液中加入 40/60/80 ul 改进型促凝剂，轻柔混匀。将混合好的溶液，灌入制胶板内，使液面和玻璃板上沿之间的距离比梳齿长 0.5cm 即可

注意：(1) 此溶液是过量的，请勿全部注入，可留少许配胶杯中，以判断胶凝固情况。

(2) 加入改进型促凝剂后，需轻柔混匀，防止过多氧气混入胶溶液中，抑制 PAGE 胶的聚合。

4. 向上述步骤 2 的混合液中加入 10/15/20 ul 改进型促凝剂，轻柔混匀。无需等待下层胶凝固，直接将混合好的上层胶溶液轻缓地注入制胶玻璃板中，插入梳子。

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溶液中。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齐平。

(2) 加入改进型促凝剂后，需轻柔混匀，防止过多氧气混入胶溶液中，抑制 PAGE 胶的聚合。

5. 等胶凝固后 (约 15-20 分钟)，取出梳子，即可用于电泳。

注意：(1) 推荐电泳条件为电压 150V，电泳 60 分钟左右，可根据溴酚蓝位置，适当缩短或延长电泳时间。

(3) 胶凝固后上下层胶分界线平整度略弱于传统方法配制的胶，但对后续电泳没有影响。

6. 电泳完成后，将凝胶从玻璃板中取出，放入成像仪紫外（波长 302nm）进行曝光成像，或者在紫外切胶台上直接观察。

注意：（1）紫外激发荧光基团需要时间，一般经过 1-5 分钟，凝胶上即可出现清晰的蛋白条带。

（2）观察 Western Blot 转印膜上的蛋白条带，必须电泳后，将凝胶经紫外激发出现清晰条带后，再进行转膜操作。若直接转膜再用紫外曝光，荧光信号会很弱或者无信号。

（3）若无紫外成像需求，可以作为常规的 PAGE 胶，进行考马斯蓝染色或者 Western 转膜等后续操作。

成分及保存条件

本产品常温运输；保存在 4 度，其中改进型促凝剂保存于-20 度，保质期为 12 个月。已开盖的改进型促凝剂，可以保持于 4 度至少 3 个月。

注意事项：

1. 丙烯酰胺有神经毒性，请穿戴实验服及口罩经行相关的实验，若是不小心溅到身体上，请及时用流水清洗，若有需要，请前往医院咨询医生处理。
2. 本品因加入染料，上层胶对样品没有强的浓缩效果，经过内部成分的优化，与传统凝胶相比，对蛋白条带分离效果更好，分辨率更高，蛋白条带更窄更锐利。
3. 改进型促凝剂的用量仅供参考，量越多的促凝剂可加速凝胶，反之亦然；凝胶速度与温度成显著正相关，温度越高凝胶速度越快，温度越低凝胶速度越慢，实际用量可根据个人实验习惯经验及环境适当调整。**室温过高时建议适当减少改进型促凝剂的用量；相反，如果室温较低，可以适当延长凝胶时间。**
4. 本产品已加入适量的 TEMED 替代品，如需要进一步提高凝胶速度，灌胶前溶液中可按需补充适量 TEMED。
5. 推荐电泳条件为电压 150V，电泳 60 分钟左右，可根据溴酚蓝位置，适当缩短或延长电泳时间。
6. 为避免凝胶中气泡的形成，建议在配胶之前，**使胶溶液及缓冲液平衡到室温**（如室温放置几分钟），对于温差比较大的环境，**建议可以延长平衡时间至 30-60 分钟**。
7. 一步法制备的胶，凝固后上下层胶分界线平整度略弱于传统方法配制的胶，但对后续电泳没有影响。也可以参考传统制胶方法，**先制备下层胶，使用水或醇压平凝固之后，再灌注上层胶。**
8. 本产品仅用于科学研究。

胶浓度选择参考

本图为 Tris-Glycine 缓冲液体系中，蛋白分子量在不同浓度的 SDS-PAGE 凝胶中的分离示意图。可能会因温度、pH 值等因素不同，实际分离情况会略有出入，本图仅供参考。

