

Stain-Free PAGE Gel Fast Preparation Kit(One-Step)

免染PAGE凝胶快速制备试剂盒(一步法)

目录号

DLW201-01/-02/-03/-04/-05

产品简介

免染PAGE凝胶快速制备试剂盒(一步法)配制的免染胶中含有特殊的添加剂,能够与蛋白质中的色氨酸残基共价结合形成荧光基团,在紫外光的激发下产生增强荧光,从而实现蛋白条带的可视化,可检测低至10~25 ng的蛋白质。此荧光基团的形成不会影响电泳及下游实验,且无需额外的染色及脱色步骤,方便快捷。同时,免染技术通过将条带对每个泳道中的总蛋白归一化来获得真正定量的蛋白质印迹数据,消除了管家蛋白作为对照的内在表达问题。

蛋白聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)是用于分离和鉴定蛋白常用的电泳检测技术,本产品包含上层胶(浓缩胶)预混液和下层胶(分离胶)预混液,并搭配改良型促凝剂,实现快速装填下层胶和上层胶。上层胶具有颜色示踪功能,确保点样孔清晰可见。下层胶含有特异性蛋白荧光染料,电泳结束后无须染色和脱色可直接在紫外灯下观察电泳结果。本试剂盒制备PAGE凝

胶过程更加简便、快捷,彩色上层胶的点样孔分明,更易于上样,电泳后无需染色,紫外灯下电泳结果一目了然。

产品组成

组分	规格 (125块/ 0.75 mm)	保存条件 及稳定性
下层胶溶液A	250 mL	2~8℃保存1年
下层胶缓冲液B	250 mL	2~8℃保存1年
上层胶溶液C	80 mL	2~8℃保存1年
彩色上层胶缓冲液D	80 mL	2~8℃保存1年
改良型促凝剂	1 mL×10	-25~-15℃保存1年,开盖后2~8℃可保存1个月

注:上层胶浓度为5%。

产品规格

货号	浓度	可制胶数量(mini胶)
DLW201-01	6%	125块(0.75 mm) 或 >90块(1.00 mm) 或 >60块(1.50 mm)
DLW201-02	8%	
DLW201-03	10%	
DLW201-04	12%	
DLW201-05	15%	

产品应用

- PAGE凝胶电泳
- Western Blot

产品特点

- 免染显色——无需染色,电泳结束后可直接在紫外灯下显示清晰条带,支持手机拍照;
- 一步法灌胶——配制更简单,灌制下层胶后直接注入上层胶,无需液封;
- 点样孔示踪——添加特殊试剂,可制备红色上层胶,为点样和区分不同凝胶提供便利;
- 安全无异味——无需使用TEMED。

操作步骤(实验前请先阅读注意事项)

配方表(以一块0.75/ 1.0/ 1.5 mm的mini胶为例)

下层胶:

凝胶厚度	下层胶 溶液A	下层胶 缓冲液B	改良型 促凝剂
0.75 mm	2.0 mL	2.0 mL	60 μL
1.00 mm	2.7 mL	2.7 mL	80 μL
1.50 mm	4.0 mL	4.0 mL	120 μL

上层胶:

凝胶厚度	上层胶 溶液C	彩色上层 胶缓冲液D	改良型 促凝剂
0.75 mm	0.5 mL	0.5 mL	10 μL
1.00 mm	0.75 mL	0.75 mL	15 μL
1.50 mm	1.0 mL	1.0 mL	20 μL

制胶流程(以一块1.0 mm的mini胶为例,请严格按照以下流程逐步实施)

- 1.各组分使用前请颠倒混匀4~5次;
- 2.各取2.7 mL的下层胶溶液A和下层胶缓冲液B混匀;
- 3.各取0.75 mL上层胶溶液C和彩色上层胶缓冲液D

混匀；

4. 向步骤2的混合溶液中加入80 μ L改良型促凝剂，混匀10 s，立即将混合溶液注入制胶玻璃板中，使液面距离短玻璃板上沿1.5 cm即可；

5. 向步骤3的混合溶液中加入15 μ L的改良型促凝剂，混匀，无需等待下层胶凝固，立即将混合溶液轻缓注入玻璃板，插入梳齿（灌注上层胶时，动作需尽量轻缓，防止上层胶冲入下层，加至液面与短玻璃板上沿重合；请尽量在3 min内完成上层胶的灌注）；

注：试剂具体用量请依据玻璃板规格等比例增减。

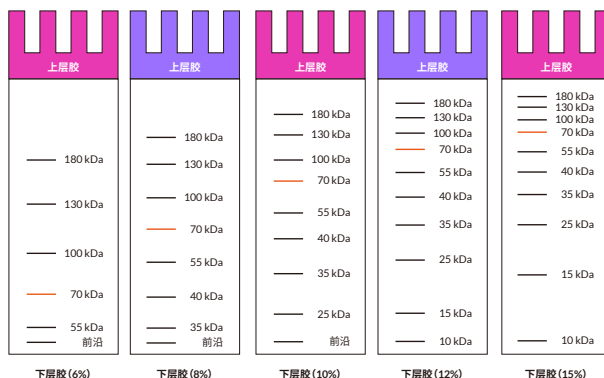
6. 凝固后即可使用新配制的电泳液进行电泳；

7. 免染凝胶成像。

a. 电泳结束后，将蛋白凝胶在ddH₂O中轻轻漂洗5~10 s，轻轻取出蛋白凝胶，并放置于洁净的凝胶成像仪载物台上；

b. 如使用紫外切胶仪，可在紫外光下（UV 280 nm~315 nm）激活后（1~5 min）即可看到清晰条带（可以直接使用手机拍照）；如使用具备Stain Free功能的成像仪，选择蛋白胶成像Stain Free功能（以伯乐设备为例），设置紫外激活1 min左右，自动曝光。不具备Stain Free功能的成像仪，设置紫外波段302 nm或365 nm，激活2~5 min，选择核酸成像（Ethidium Bromide模式），曝光10~15 s；具备化学发光成像功能的成像设备，手动调整滤光片使其适合EB成像。（建议在PAGE凝胶上喷少量ddH₂O以保持湿润，避免PAGE凝胶变干。）

凝胶浓度选择参考



注意事项

- 不同浓度试剂盒各组分请勿混用，否则会影响凝胶及电泳效果；
- 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；
- 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；
- 避免反复冻融，已开盖的改良型促凝剂可置于2~8℃保存一个月；
- 请使用Tris-Glycine电泳缓冲液，推荐电泳条件为：200 V，约45 min；
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作；
- 免染显色后仍可以进行考马斯亮蓝染色。

保存条件

保质期1年，试剂盒各组分保存条件见产品组成。

改良型促凝剂≤0℃运输，其他组分常温运输。

技术支持

本公司产品使用过程中如有任何疑问与建议，欢迎

随时与我们联系：product@tsingke.com.cn。

关联产品推荐

产品名称	货号	应用
Trelief®无缝克隆试剂盒	DLV201-20	利用同源重组的原理，可有效克隆50 bp~20 kb的片段到线性化载体中
DNA凝胶回收试剂盒（安全便捷型）	DLN801	适用于从琼脂糖凝胶或PCR产物中回收多至10 μ g DNA（80 bp~10 kb），回收率可达65~85%
Colorful DL2000 DNA Marker	DLE101	适用于作为琼脂糖凝胶电泳中双链线状DNA分子量大小的参照
高纯度质粒小提试剂盒	DLN701	适用于从1~4 mL的细菌培养物中提取多至20 μ g高纯度的质粒DNA，配备独特的颜色指示剂
FastPAGE蛋白预制胶	TSP024-12	高性能的聚丙烯酰胺电泳预制凝胶，用于蛋白分离。梯度浓度4~20%

