免染PAGE胶一步法制备试剂盒

Stain-Free PAGE Gel One-Step Preparation Kit

Catalog # SF06/08/10/12/15

使用说明书

www.affinibody.com
Swiss Affinibody LifeScience

Version 3.2

01 产品特点

免　染	紫外成像，无需定量，无需调整内参
一步法	无需封胶，20min即可上样
高分辨率	可达梯度胶效果，且无边缘效应
彩　色	上层胶为彩色，加样孔可视
无异味	无需添加TEMED，避免恶臭气味

02 产品内容

名称	体积	储存温度	可制胶数量
上层胶溶液A(上A)	80 mL	4℃	0.75mm (>125块)
上层胶溶液B(上B)	80 mL	4℃	
下层胶溶液A(下A)	2×125 mL	4℃	1.00 mm(>100块)
下层胶溶液B(下B)	2×125 mL	4℃	1.50 mm(>75块)
改良型促凝剂(E-APS)	2×16 mL	4℃/-20℃	

03 配制流程

1. 制胶前准备：

1.1 E-APS为干粉，可常温储存，使用前加入16ml ddH_2O，溶解以后可4℃存储3个月，-20℃存储一年以上。

1.2 E-APS溶液从4度冰箱或-20度冰箱取出，待完全解冻后，涡旋震荡充分混匀。

1.3 **下A/上A 使用前均需轻轻摇晃翻转充分混匀。**

2. 下层胶制备：

2.1 按照表1进行下层胶混合液的制备，可根据环境温度相应调整 E-APS用量。

表1：下层胶配制推荐表

厚度	下A	下B	**E-APS (17-27℃)**	E-APS **(>27℃)**	E-APS **(<17℃)**
0.75 mm	2.0 mL	2.0 mL	**60 μL (1.5%)**	40 μL (1%)	80 μL (2%)
1.00 mm	2.7 mL	2.7 mL	**80 μL (1.5%)**	55 μL (1%)	105 μL (2%)
1.50 mm	4.0 mL	4.0 mL	**120 μL (1.5%)**	80 μL (1%)	160 μL (2%)

2.2 取相同体积的下A和下B混合，参照表1根据环境温度，加入适当的E-APS溶液。

2.3 充分吹打混匀后注入制胶玻璃板中，当液面距离短玻璃板上沿约1.5cm时，停止注入，并震荡制胶器使液面平整，无需封胶，立刻进行上层胶制备。若等待时间过久，下层胶已发生部分凝固，造成上下层胶接触界面变形。

3. 上层胶制备

3.1 按照表2进行上层胶混合液的制备。

表2：上层胶配制推荐表

厚度	上A	上B	E-APS (17-27℃)	E-APS （≥27℃)	E-APS (≤17℃)
0.75 mm	0.5 mL	0.5 mL	**53 μL (5%)**	38 μL (3.5%)	75 μL (7%)
1.00 mm	0.75 mL	0.75 mL	**80 μL (5%)**	55 μL (3.5%)	115 μL (7%)
1.50 mm	1.0 mL	1.0 mL	**106 μL (5%)**	75 μL (3.5%)	150 μL (7%)

3.2 取相同体积的上A和上B混合，参照表2根据实验室环境温度，加入适当的E-APS溶液。

3.3 充分吹打混匀后注入制胶玻璃板中，当液面溢出玻璃板时，停止注入，并震荡制胶器使液面平整，轻轻插入梳子，约 20min PAGE胶即可凝固。

3.4 建议在电泳缓冲液液面以下拔出梳子，避免胶孔变形。

04 电泳条件

1. 传统的Tris-Glycine缓冲液体系，对于小分子量蛋白（10 kD）分辨率较差；
2. 使用本公司 Uni™ SDS-PAGE 快速电泳缓冲液（Cat: AFRB-R500)，可提高小分子蛋白的分辨率，推荐电泳条件为恒压 300V，20min；
3. 兼容传统的Tris-Glycine缓冲液体系，推荐电泳条件为恒压300V，30 min。

05 免染凝胶成像

1. 将裸胶放入ddH_2O中漂洗5s左右，轻轻取出裸胶放入事先擦干净的凝胶成像仪载物台上，紫外成像。

2. 成像参数设置，以伯乐设备为例，选择蛋白胶成像 Stain Free功能，设置紫外激活45s，自动曝光。为避免长时间激活SDS-PAGE胶变干，建议胶上喷少许ddH_2O保持PAGE胶湿润；对于不具备 Stain Free 功能的凝胶成像仪，可先手动设置302nm或365nm波段的紫外激发2min左右，然后选择核酸成像（Ethidium Bromide模式），曝光时间选择10s左右。个别同时具备化学发光成像功能的凝胶成像设备，可能需要手动调整滤光片使其适合EB成像。

3.免染成像可对每个泳道中的总蛋白进行归一化处理，替代内参蛋白作为参照。详细教程请参考亲和生命公众号"如何使用ImageLab软件执行总蛋白归一化的高级教程"。

06 注意事项

1. 试剂盒取出后，请静置半小时以恢复至室温，上下颠倒混匀后进行制胶；

2. 从冰箱取出的E-APS溶液可能存在促凝剂的析出，需完全解冻涡旋后方可使用；

3. PAGE胶的凝固时间为20min，若温度过冷或过热导致凝固异常，可适当调节E-APS的用量；

4. 灌注下层胶以后尽快直接灌注上层胶，如果中间等待时间过久，容易造成下层胶的凝固，上下层胶的分界处扭曲严重，干扰电泳的美观程度；

5. 紫外线穿透能力弱，胶与载物台之间不可有玻璃、薄膜或透明塑料隔板等；

6. 若拔出梳子后胶孔内有残胶或薄膜样，上层胶中E-APS请按照表2中最低比例添加。

Swiss Affinibody LifeScience AG

品质成就科学梦想

官网链接 B站链接 小红书链接 视频号链接

Affinibody
亲和生命
Swiss Affinibody LifeScience AG

网址: www.affinibody.com
邮箱: info@affinibody.com
电话：+41(0)763290285 +86 18513969691