

One-Step Color Fast Gel Preparation Kit

一步法彩色快速凝胶试剂盒

货号: BRK0002

规格: 125T

◆ 产品简介

本产品提供了上层胶（浓缩胶）和下层胶（分离胶）的预混溶液。所配的上层胶呈现彩色，点样孔清晰易辨，方便点样。彩色染料不影响电泳、染色及转膜等后续实验。本产品采用 Tris Glycine 凝胶体系，使用时仅需自备制胶器具和去离子水。本产品配制的凝胶也可用于非变性 Native PAGE 凝胶电泳（胶液不含 SDS）。

◆ 产品信息

产品货号	产品名称	产品规格
BRK0001	一步法彩色快速凝胶试剂盒 6%	125 片/盒(0.75 mm)
BRK0002	一步法彩色快速凝胶试剂盒 8%	125 片/盒(0.75 mm)
BRK0003	一步法彩色快速凝胶试剂盒 10%	125 片/盒(0.75 mm)
BRK0004	一步法彩色快速凝胶试剂盒 12%	125 片/盒(0.75 mm)
BRK0005	一步法彩色快速凝胶试剂盒 15%	125 片/盒(0.75 mm)

成品胶厚度	0.75 mm	1.0 mm	1.5 mm
可制胶数量 (125 T)	125 片 (10*8 cm)	90-110 片 (10*8 cm)	60-70 片 (10*8 cm)

具体可以配制的凝胶数量与凝胶尺寸有关，不同制胶器材体积会有误差，以上数值仅供参考。

◆ 产品特点

- 1、上样方便：彩色上层胶，点样孔清晰易辨，方便点样；
- 2、配胶快捷：短时间灌制多块凝胶，无需计算所需溶液量（1:1 混合），无需稀释，无需压胶操作；
- 3、高效兼容传统的电泳液和转膜液。

◆ 产品组成

编号	名称	规格(125 T)	存储
BRK0002-A	上层胶溶液 (2×)	80 mL	2-8℃ 避光
BRK0002-B	上层胶缓冲液 (2×)	80 mL	2-8℃
BRK0002-C	下层胶溶液 (2×)	250mL	2-8℃ 避光
BRK0002-D	下层胶缓冲液 (2×)	250mL	2-8℃
BR00004	PAGE 胶凝固剂	8 mL	-20℃ 避光

◆ 保存条件

- 1、配胶试剂盒 2-8℃避光保存，有效期为 12 个月。
- 2、试剂盒冰袋运输，PAGE 胶凝固剂如**短期使用**，可于 2-8℃避光保存，**2 月内用完**，同时尽量减少室温存放时间，以防失效。

◆ 使用说明

PAGE 分离胶浓度的选择:

根据实验需求选择合适的 PAGE 分离胶配制浓度，凝胶浓度配方参考附表。

分离胶浓度	6%	8%	10%	12%	15%
最佳分离范围	50-150 kDa	30-90 kDa	20-80 kDa	12-60 kDa	10-40 kDa

以制备一块 0.75/1.0/1.5 mm 的 mini 胶为例:

	试剂	分离胶			浓缩胶		
		0.75 mm	1.0 mm	1.5 mm	0.75 mm	1.0 mm	1.5 mm
试剂 A	上层胶溶液	-	-	-	0.5 mL	0.75 mL	1.0 mL
试剂 B	上层胶缓冲液	-	-	-	0.5 mL	0.75 mL	1.0 mL
试剂 C	下层胶溶液	2.0 mL	2.7 mL	4.0 mL	-	-	-
试剂 D	下层胶缓冲液	2.0 mL	2.7 mL	4.0 mL	-	-	-
BR00004	PAGE 胶凝固剂	28-40 μL	38-54 μL	56-80 μL	7-10 μL	11-16 μL	14-20 μL

注：由于染料的特殊理化性质，上层胶缓冲液底部有沉淀属于正常情况，使用前请摇匀。

将试剂盒从冰箱内取出后，请置于室温，等待配胶试剂盒中的试剂恢复至室温后（达到 20℃以上）使用。

★同等条件下，温度越高，凝胶速度越快，温度过高时建议适当降低 PAGE 胶凝固剂的使用量。同等条件下，温度越低，凝胶速度越慢，温度过低时建议适当增加 PAGE 胶凝固剂的使用量。

制胶

1、下层胶（分离胶）制备（试剂 C 和试剂 D，1:1 混合）

- 取等体积下层胶溶液和下层胶缓冲液，混匀；
- 按照 0.7% 的比例加入相应量的 PAGE 胶凝固剂（BR00004）；
- 混匀后倒入制胶模具中；
- 加适量水或乙醇覆盖于下层胶之上进行压胶（可选步骤，自行选择是否压胶）。

2、上层胶（浓缩胶）制备（试剂 A 和试剂 B，1:1 混合）

- 取等体积上层胶溶液和上层胶缓冲液，混匀；
- 在步骤 a 的混合液中按照 0.7% 的比例加入相应量的 PAGE 胶凝固剂（BR00004），混匀；
- 灌制完下层胶，无需压胶和等待下层胶凝固，立即在下层胶液上缓慢加注上层胶液，注意请勿过快，否则会冲散下层胶液面（如果个人觉得配制困难，可自行选择用水或乙醇压胶凝固后加注上层胶）；灌满后插入梳子待凝固（约 30 min）；凝胶凝固后，制胶步骤结束，可进行后续电泳实验。

注：凝胶凝结的时间和温度高低有关；温度高，凝结所需的时间短；反之，需要的时间长；说明书中 PAGE 胶凝固剂（BR00004）使用量是在 20℃ 标准情况下；请根据实际温度，适量增减 PAGE 胶凝固剂（BR00004）使用量。

3、凝胶保存

未使用的凝胶，建议浸没在凝胶保存液中保存，使用自封袋密封，放置在 2-8℃ 环境中，建议 7 天内使用完。

凝胶长期保存时，应注意：

- 避免温度反复剧烈变化
- 避免温度低于 0℃，否则凝胶冻结结冰，不能使用
- 确保凝胶处于湿润状态

电泳

- 将制备好的凝胶固定在电泳槽中，安装好电泳装置；
- 向电泳槽中加入 1× Tris-甘氨酸-SDS 电泳缓冲液。内槽加满电泳缓冲液，外槽电泳缓冲液需至少加至 1/3 液面，最高不可漫过胶板，然后缓慢拔出梳子；用移液器轻轻吹打加样孔，清除残余胶液；
- 上样：将蛋白样品与 5× 变性 Loading buffer 进行 4: 1 混合均匀，加热处理。上样时注意枪头勿刺破凝胶或插入过深使胶板变形造成后续电泳时漏液；
- 接通电源，恒压条件下跑胶（180 V），当溴酚蓝指示带电泳至胶板底部，或实验预定位置时，即可结束电泳。

凝胶浓度选择参考:



上图为 Tris-Gly 缓冲系统中, 蛋白分子量标准(10~250kDa, 含有 11 条蛋白条带)在不同浓度的 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。

◆ 注意事项

- 1、上层胶溶液和下层胶溶液中含有 Acr 和 Acr-Bis, 操作时请特别小心, 并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内;
- 2、PAGE 胶凝固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;
- 3、仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床医学诊断及非合理用途, 不得存放于普通住宅内。
- 4、为了您的安全和健康, 请穿戴好个人防护装备和实验服装进行操作。

◆ 常见问题

常见问题	可能原因	解决方法
凝胶未凝固好	1.凝固剂失效	1.注意凝固剂保存条件
梳齿缺失	2.胶液温度较低	2.将试剂盒恢复至室温使用
条带呈现微笑状	3.凝固剂添加比例错误	3.按照说明书使用
条带弯曲	1.灌制浓缩胶时, 速度较快	1.灌制浓缩胶时, 应动作轻缓
	2.插梳子时, 用力较猛	2.插梳子时, 应动作轻缓
	3.室温较高, 分离胶凝固较快	3.降低室温, 或降低凝固剂量 ($\geq 0.5\%$)
样品在样品孔内漏样	浓缩胶干缩, 导致凝胶和玻璃板之间出现间隙	制好的凝胶应尽快使用, 或存于保存液中4℃储存
电泳条带较粗	浓缩胶较少	增加浓缩胶长度