

FastRun Acrylamide Kit (10%) Handbook

FastRun 快速电泳 SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒 (10%) 说明书

产品组成

FastRun Acrylamide Kit (10%)		
产品编号	EK-6240-S	EK-6240-M
Reslover A solution (10%)	40ml	125ml
Reslover B solution	40ml	125ml
Stacker A solution	20ml	62ml
Stacker B solution	20ml	62ml
使用手册	1	1

产品介绍

FastRun 快速电泳 SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒对传统 SDS-PAGE 凝胶制备配方进行了优化, 相对于传统 SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒, FastRun 快速电泳 SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒具有以下特点:

1. 可同时制备浓缩胶与分离胶, 在开始铸胶到准备上样电泳之间时间不超过 30 分钟。
2. 最快能在 20 分钟内完成电泳 (300V 电压的条件下) 而不损伤凝胶。
3. 相对于 Tris-HCl 凝胶有更高的转膜效率。
4. 在正确的保存条件下, 铸好的凝胶可在 4°C 保存长达 4 周时间。

存储条件

该试剂盒于 4°C 条件下可保存 12 个月。

需要额外准备的材料

- 制胶器具
- 去离子水
- 1×Tris-甘氨酸-SDS 电泳缓冲液
- 新鲜的 10% APS 溶液
- TEMED

开始前注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

- FastRun 快速电泳 SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒 (10%) 所铸的 SDS-PAGE 分离胶浓度为 10%, 对蛋白质大小的最佳分离范围为 20-80kD, 如需铸造其他浓度的 SDS-PAGE 分离胶, 可购买其他相关试剂盒或联系销售人员。
- 收到试剂盒时可将试剂盒放于 4°C 中保存, 但使用前请保证试剂温度回至室温。
- 为了您的安全与健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 本产品仅供科研使用, 请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

开始前试剂准备

- 使用前应配制新鲜的 10% APS 溶液, 且在 -20°C 条件下至多储存 2 个星期。

试剂盒可铸胶数量

	常规玻璃板 (~9×7cm)		
	0.75mm 玻璃板	1mm 玻璃板	1.5mm 玻璃板
EK-6240-S	~19 块	~13 块	~9 块
EK-6240-M	~60 块	~40 块	~30 块

铸胶试剂量参考图

	0.75mm 玻璃板 n=制胶数量		1mm 玻璃板 n=制胶数量		1.5mm 玻璃板 n=制胶数量	
	浓缩胶	分离胶	浓缩胶	分离胶	浓缩胶	分离胶
Reslover A solution(10%)	-	2ml×n	-	3ml×n	-	4ml×n
Reslover B solution	-	2ml×n	-	3ml×n	-	4ml×n
Stacker A solution	1ml×n	-	1ml×n	-	1.5ml×n	-
Stacker B solution	1ml×n	-	1ml×n	-	1.5ml×n	-
总体积	2ml×n	4ml×n	2ml×n	6ml×n	3ml×n	8ml×n
10% APS	10μl×n	20μl×n	10μl×n	30μl×n	15μl×n	40μl×n
TEMED	2μl×n	2μl×n	2μl×n	3μl×n	3μl×n	4μl×n

操作步骤:

1. 将所需使用的玻璃板、卡槽等器具正确安装完毕并确认好密封性。
2. 参考上述铸胶试剂量参考图将等量的 Reslover A solution (10%) 和 Reslover B solution 1: 1 混匀。
3. 按照上述铸胶试剂量参考图在步骤 2 溶液中加入合适体积的新鲜的 10% APS 溶液和 TEMED, 充分混匀后即刻用枪头吸入安装好的玻璃板中, 分离胶溶液上平面到达离梳齿底部 0.5-1cm 处即可。

注意: 可提前将梳子插入玻璃板内计算好所需预留高度并做好标记。灌胶过程中应保持平稳, 避免玻璃板内凝胶溶液中出现气泡。

4. 注胶完成后用蒸馏水或者异丙醇进行水封。

水封的目的是为了使分离胶上延平直, 并排除气泡, 且防止氧化, 优先选择异丙醇进行水封。凝胶聚合好的标志是胶与水层之间形成清晰的界面, 等待时间约 10-15 分钟。

5. 等分离胶完成凝胶后, 倒出水封液体, 参考上述铸胶试剂量参考图将等量的 Stacker A solution 和 Stacker B solution 1: 1 混匀。
6. 按照上述铸胶试剂量参考图在步骤 5 溶液中加入合适体积的新鲜的 10% APS 溶液和 TEMED, 充分混匀后即刻用枪头缓慢平稳吸入安装好的玻璃板中, 直到浓缩胶填满剩余空间, 插入梳子。

注意: 将浓缩胶吸入玻璃板内时应缓慢平稳, 以免浓缩胶和分离胶混合在一起。梳子插入时应保持平稳, 以免在胶溶液中产生气泡。

7. 等待 30-45 分钟直到胶溶液聚合完毕。放入电泳槽中并加入 1×Tris-甘氨酸-SDS 电泳缓冲液进行电泳。

注意: 铸好的凝胶如需保存可用浸好去离子水的纸包裹并装入密封塑料袋中置于 4°C 中保存至多 4 周时间。

8. 最佳电泳时间取决于凝胶浓度及电泳的电源。在 100V 电压下需运行 85-95 分钟; 在 200V 电压下需运行 30-40 分钟; 在 300V 电压下需运行 20-25 分钟。(请根据实际电泳情况指示带位置决定电泳时间)

注意: 不要在同一电泳槽内运行不同化学类型的凝胶。确保电泳槽内有足够的电泳缓冲液。

常见问题:

	解决方案
电泳结果条带形状呈波浪状或微笑状	样品中含有杂质, 可重新离心样品再次上样
	电压过高, 可适当降低电压延长电泳时间
凝胶未聚合	延长 10-15 分钟聚合时间
	更换新鲜的 10% APS 溶液