

WBFast®彩色 PAGE 凝胶快速制备试剂盒（一步法）说明书

WBFast® One-Step Colour PAGE Gel Fast Preparation Kit Product Manual

货 号	名 称	可制胶数量
JX41006	制备 6%PAGE 胶，黄色上层胶	125 块 0.75 mm 胶 >90 块 1.0 mm 胶 >60 块 1.5 mm 胶
JX41075	制备 7.5%PAGE 胶，绿色上层胶	
JX41010	制备 10%PAGE 胶，蓝色上层胶	
JX41015	制备 12.5%PAGE 胶，红色上层胶	
JX41125	制备 15%PAGE 胶，紫色上层胶	

● 货品内容：

组份	名称	规格
1	上层胶溶液（2×）	80 ml
2	上层胶缓冲液（2×）	80 ml
3	下层胶溶液（2×）	250 ml
4	下层胶缓冲液（2×）	250 ml
5	改良型促凝剂	10 ml
6	刻度配胶杯	6 个
7	说明书	一份

● 运输、贮存及效期：

本产品常温运输；4-8℃贮存，其中配制后的改良型促凝剂贮存于-20℃；有效期一年。

● 产品特点：

快速制备凝胶：无需液封等待下层胶凝固，即可直接灌注上层胶，制胶更省时；

彩色上层胶：可制备五种颜色的上层胶，为点样和区分不同凝胶提供便利；

避免异味：无需使用 TEMED，环境安全友好；

凝胶高稳定性：中性 pH 凝胶,有效提高凝胶稳定性,密封条件下，凝胶可以四度贮存 6 个月。

兼容性广：制胶溶液中不含 SDS，可用于非变性电泳（Native-PAGE）。

● 产品简介:

该产品利用聚丙烯酰胺凝胶电泳原理，采用上层胶和下层胶的预混配方，只需加入改良型促凝剂即可凝胶，灌入下层胶后，无需等待凝胶，直接灌入上层胶即可，简便快捷可在 15 分钟内配制得到高质量的聚丙烯酰胺凝胶，可用于变性和非变性蛋白凝胶电泳，适用于 Tris-甘氨酸电泳体系（Laemmli 体系）。五种上层胶颜色设计，点样孔清晰易辨，方便点样，可以配制 6%（黄色上层胶）、7.5%（绿色上层胶）、10%（蓝色上层胶）、12.5%（红色上层胶）和 15%（紫色上层胶）的分离胶浓度，可以满足绝大多数蛋白电泳需求。

本产品配套提供改良型促凝剂，其具有更好的稳定性和催化效能，配胶过程中无需额外添加 TEMED。为方便操作，已开盖使用中的改良型促凝剂，可置于 4℃ 保存至少三个月。

本试剂盒大约可以配制 60-125 块常规大小（8×10 cm）的 PAGE 凝胶，具体数量根据凝胶厚度决定：0.75 mm 厚度凝胶可以配制 125 块胶，1.0 mm 厚度凝胶可以配制至少 90 块胶，1.5 mm 厚度凝胶可以配制至少 60 块胶。

● 使用说明:

一. 制胶前的准备:

1.1 即用型改良型促凝剂配制:

试剂盒提供的改良型促凝剂为干粉，第一次使用前加入 10 ml 超纯水，彻底溶解后使用。

配制好的即用型改良型促凝剂置于 4℃ 备用，长期不用建议 -20℃ 贮存。

1.2 推荐操作:

实验前半小时，取出试剂盒所有组份，常温静置半小时使溶液恢复到常温后轻柔混匀后使用，可以有效降低制胶时产生气泡的可能性。

二. 凝胶配制(以一块 0.75/1.0/1.5 mm 厚度的 8×10cm 胶为例):

2.1 取等体积彩色上层胶缓冲液和上层胶溶液，各 0.5/0.75/1.0 ml，混匀；

注：由于染料的特殊理化性质，彩色上层胶缓冲液使用前请摇匀。

2.2 取等体积下层胶缓冲液和下层胶溶液，各 2.0/2.5/4.0 ml，混匀；

2.3 向步骤 2.1 的上层胶混合溶液中加入 10/15/20 μ l 改良型促凝剂，轻轻混匀。

注：加入改良型促凝剂后，需轻柔混匀，防止过多氧气混入胶溶液，抑制凝胶聚合和导致凝胶内可能产生气泡。

2.4 向步骤 2.2 的下层胶混合溶液中加入 40/50/80 μ l 改良型促凝剂，轻轻混匀；将溶液注入制胶玻璃板中，使液面和短玻璃板上沿之间的距离为约 1.5 cm 或距离梳齿下沿距离为约 0.5 cm 即可；

注：此溶液为过量，请勿全部注入，可留少许于制胶杯中，便于判断凝胶状态；加入改良型促凝剂后，需轻柔混匀，防止过多氧气混入胶溶液，抑制凝胶聚合和导致凝胶内可能产生气泡。

2.5 无需等待下层胶凝固，迅速将步骤 2.3 的上层胶混合溶液左右平移缓慢轻柔注入制胶玻璃板中，插入梳齿。

注：加入下层胶混合液后，请在 **1-2 分钟**内灌注上层胶混合溶液，加入时一定要轻缓，避免将上层胶溶液冲入下层胶；凝固后上下层胶分界线平整度略弱于使用封闭方法配制的凝胶，但对后续电泳没有影响。

2.6 待胶凝固后拔去梳齿，用注射器或枪头吸取电泳缓冲液将加样孔冲洗干净，即可进行常规电泳操作。

注：凝胶的聚合时间与环境温度有关。夏天温度较高时，聚合较快；冬天气温低时，聚合时间会延长。

温度与凝胶时间参考表

环境温度	18℃	25℃	37℃
凝固时间	~20 min	~15 min	~10 min

附：凝胶配方表

表一 彩色上层胶配方				表二 下层胶配方			
胶厚度	彩色上层胶缓冲液	上层胶溶液	促凝剂	胶厚度	下层胶缓冲液	下层胶溶液	促凝剂
0.75 mm	0.5 ml	0.5 ml	10 µl	0.75 mm	2.0 ml	2.0 ml	40 µl
1.0 mm	0.75 ml	0.75 ml	15 µl	1.0 mm	2.5 ml	2.5 ml	50 µl
1.5 mm	1.0 ml	1.0 ml	20 µl	1.5 mm	4.0 ml	4.0 ml	80 µl

三. 电泳：

3.1 变性电泳：

电泳缓冲液	5×Tris-甘氨酸-SDS 电泳缓冲液
上样缓冲液	5×蛋白上样缓冲液（变性，还原）
电泳条件	恒压 200 V 40-55 min

3.2 非变性电泳：

电泳缓冲液	5×Tris-甘氨酸电泳缓冲液
上样缓冲液	5×蛋白上样缓冲液（非变性，非还原）
电泳条件	恒压 150 V 50-65 min

非变性电泳必看：该凝胶体系 pH 大约 8 左右，适用于等电点 pI 小于 8 的蛋白电泳分离，pI 越远离 8，带的负电荷越多，分离就更容易；等电点接近 8 或者高于 8 的蛋白不适合用该系统进行非变性电泳。

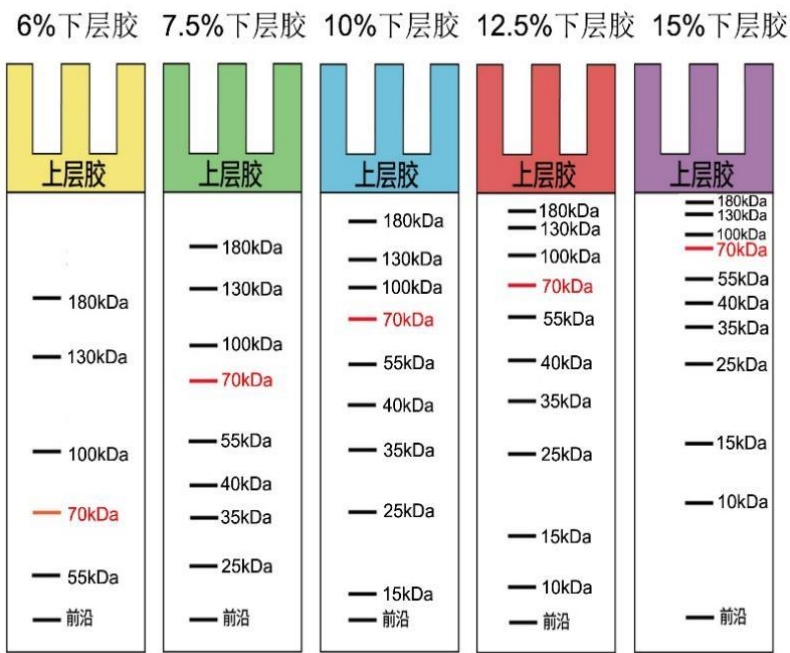
四. 凝胶染色或转膜：

4.1 凝胶染色可以选择 FastBlue 蛋白快速染色液，可以在 30 分钟内完成染色和脱色，也可以选择常规法考马斯亮蓝蛋白染色液。

4.2 转膜缓冲液可以使用湿转法或半干转方法转膜。湿转法可以使用经典 Tris-甘氨酸转膜缓冲液或者使用 10×WBFastt 快速转膜液。半干转转膜可以使用 5×WBFastt 快速半干转转膜缓冲液。

五. 凝胶浓度选择参考:

目的蛋白分子量	下层胶浓度	压缩前沿
10 kD 以下	15%	~6 kD
10-45 kD	12.5%	~10 kD
45-100 kD	10%	~15 kD
100-180 kD	10%/7.5%	~15 kD/~25 kD
180-250 kD	7.5%	~25 kD
250 kD 以上	6%	~60 kD



上图为 Tris-甘氨酸缓冲系统中, 蛋白分子量标准 (10-180 kDa, 含有 10 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。

