

制胶---FlexiRun™ 10 Min. Premix PAGE solution

20%浓度，用于配制聚丙烯酰胺胶的预混液。

使用方法

以一块胶(层积胶 3ml，分离胶 6ml)的用量计算

	总体积 6ml			
分离胶浓度	FlexiRun™	水	TEMED	10% APS
8%	2.4ml	3.6ml	6ul	60ul
10%	3ml	3ml		
12%	3.6ml	2.4ml		
12.5%	3.75ml	2.25ml		
15%	4.5ml	1.5ml		
	总体积 3ml			
浓缩胶浓度	FlexiRun™	水	TEMED	10% APS
5%	0.75	2.25	3ul	30ul

1.制胶

首先在两个 30ml 的挤压瓶外分别标注“上”“下”以区分积层胶和分离胶，然后按照制胶条件分别加入 FlexiRun 和蒸馏水，再依序加入 TEMED 和新鲜配制的 APS，将挤压瓶盖紧后，轻轻颠倒混匀十秒即可准备下一步灌胶。

2.灌胶

取“下”挤压瓶灌分离胶，在胶板边的固定点挤压，将分离胶灌到胶板里面（按照传统灌分离胶胶高度，给积层胶预留出 1cm 位置），无需加水压线，无需待分离胶凝胶；随即取“上”挤压瓶灌层积胶，将挤压瓶在胶板孔隙左右移动点漏到胶板中，灌满胶板后，插上梳子，5-10 分钟（室温 25℃）即可完成凝胶。

跑胶---QuickRun™ Fast Running buffer 10×

使用方法

依电泳槽大小来考虑电泳缓冲液的配制体积，请用蒸馏水将 10×QuickRun 储备液稀释到 0.5×，再将稀释后的电泳缓冲液灌满整个内外电泳槽，外槽需没过电阻丝，内外槽需留有一定液面差，以防烧坏仪器。

蛋白上样量正常 10ul

使用恒压 220V 约 20--30 分钟即完成电泳，断电时间请参照蛋白 marker 或溴酚蓝位置（电泳阶段无需加冰或放入冰箱）

重要提示：

缓冲液可以反复使用 3-5 次，但是需要注意

1. 回收的工作液应置于 4℃ 保存，以免染菌。
2. 如果电泳时间过长，有蛋白跑到胶外面，缓冲液再使用时，跑胶时间会略微拉长。
3. 此缓冲液对于部分蛋白上样过量比较敏感，如会出现拖尾或蛋白两端上翘现象，建议调整如下：

蛋白上样量降至 2-12ug；如实验需要上样量大于此建议量，在 1L 工作液中加入 1-2g 的 SDS；电泳 2/3 后，将电压降至 80V 电泳 5-10 分钟；长胶，电泳至 80%时停止电泳；在 4℃ 条件下电泳。

转膜---ReadyBlot™ Fast Western buffer 10x

使用方法

1. 用 1L 量筒量取 100ml 10× ReadyBlot™，加入 200ml 甲醇及 700ml 去离子水或者蒸馏水，混匀待用。

2. 三明治的制备同传统方法

（请先将 PVDF 膜在甲醇中浸泡 10s，勿超过 15s；将膜、滤纸及海绵在稀释后的转印缓冲液中浸泡 2-3min，开始制作三明治，此过程中不能产生气泡）

3. 将稀释后的转印缓冲液加入转印槽中，使用恒定电流 400 mA，1mm 厚度胶 30min，1.5mm 厚度胶 40 分钟，即可完成转印。

（整个转印过程无需加冰或放入冰箱）

*以上时间为一片膜的转印时间，若同时转印两张膜请适当延长 10min

重要提示：

4. 缓冲液可以反复使用 5-7 次，回收的工作液应置于 4℃ 保存，以免染菌。

染胶---BluPower™ Powder, Fast Staining Coomassie

使用方法

将一包粉末用 47.5ml 蒸馏水以及 2.5ml 乙醇溶解，并加入 175ul 浓盐酸，磁力搅拌混匀溶解，放入可微波加热的容器中待用。染色前，将胶在水中浸泡 2-4 分钟。将胶放到染色液中，在微波炉里大火加热 15-20 秒，用手触摸是温热的感觉。将染色液取出，室温在摇床上染色 15-30 分钟，无需用水脱色，主要的蛋白条带即可呈现。在水中浸泡过夜，可加强信号，使含量较低的蛋白呈现。

重要提示：

BluPower 可以至少重复使用 3-5 次。在染胶之前，请先将胶在水里洗 2-4 分钟，因胶里面的 SDS 会影响到染料结合。

保存方法及有效期

FlexiRun™ 10 Min. Premix PAGE solution:

-20℃ 1 年。如短时间反复使用，可置于 4℃ 保存 3 个月。

其他：室温保存 5 年。

回收的已经稀释的 QuickRun 和 ReadyBlot 工作液需置于 4℃ 保存，以免染菌。

其他注意事项

1. FlexiRun

因里面含有蔗糖成分，电泳结束后从胶板上取下时，可在水流下操作，避免胶破裂。

2. QuickRun

(1) 利用 QuickRun 跑蛋白，对蛋白的辨识能力比较强，所以蛋白的上样量不要太多，如上样过量，蛋白条带上下会比较宽，甚至出现拖尾或两端上翘。建议上样量 0.75mm 胶，不要超过 8ug，1mm 胶，不要超过 10ug，1.5mm 胶，不要超过 12ug。

【建议】建议用 1mm 和 1.5mm 的胶。

3. ReadyBlot

转印时三明治夹子的松紧度请调整好，过松或过紧比较容易影响结果。