



# 中科瑞泰

## 超低分子量蛋白Marker III (3.4-100kD)

### 产品编号及规格:

RTD6125      10T(50 $\mu$ l)

### 储存条件:

-20 $^{\circ}$ C 贮存;开封后有效期一年。

### 产品简介:

超低分子量蛋白Marker III 用来测定SDS-PAGE上多肽和小蛋白的分子量,由5种多肽和3种低分子量蛋白质组成。8条带的大小分别为3.4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 100kD。

说明书Ver. 670868

### 使用方法:

用前必读:

- 第一次收到该产品,常温融化后,彻底混匀,离心快甩将溶液完全收集到管底, -20 $^{\circ}$ C 贮存。
- 本产品为即用型溶液,已经含有上样缓冲液, **融化后直接上样,不能加热处理。**
- Marker溶液中含有DTT,多次使用后DTT容易氧化。如果发现电泳后出现多余条带,请在Marker中补加终浓度100mM的DTT溶液。

#### 一. 制胶:

##### I 配制分离胶

- 按照表一将各组份加入到小烧杯中混合,使溶液充分混匀。
- 在凝胶模具中迅速灌入适量分离胶溶液,然后在分离胶溶液上轻轻覆盖一层1-3cm的水层,使凝胶表面保持平整。
- 静置10-20分钟,待分离胶和水层之间出现一个清晰的界面表示凝胶已聚合。

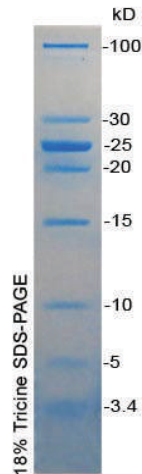
##### II 配制浓缩胶

- 去除覆盖在分离胶上的水层,用滤纸将残留的水吸去。
- 按照表一将各组份加入到小烧杯中混合,使溶液充分混匀。
  - 灌入适量浓缩胶溶液。
  - 将梳子插入凝胶内,避免产生气泡。
  - 静置20-30分钟后等待凝胶聚合。

表一 (一块厚度0.75mm或1mm凝胶用量)

	分离胶	浓缩胶
	18%T, 5%C /6.0 ml	5%T, 3.3%C /4.0 ml
40% PAA (19:1)	2.7 ml	/
40% PAA (29:1)	/	0.5 ml
4 $\times$ 凝胶缓冲液	1.5 ml	1 ml
乙二醇(电泳级)	1.8 ml	/
ddH <sub>2</sub> O	/	2.5 ml
10%APS	40-60 $\mu$ l	40 $\mu$ l
TEMED	6 $\mu$ l	4 $\mu$ l

- 注: 1. 如非必须,尽量使用厚度0.75mm或1mm的凝胶,避免使用1.5mm的凝胶,这样会减少电泳后染色和脱色的时间。  
2. 10% APS极易失效,用后-20 $^{\circ}$ C 贮存。如发现凝胶在常规时间内不能凝固,请换用新鲜的APS溶液。  
3. 凝胶凝固时间与环境温度有关,温度低于20 $^{\circ}$ C 时请适当调节APS加入量和延长凝固时间。



背面续

## 使用方法:

### 二. 电泳:

1. 取Marker样品, 常温彻底融化后, 充分混匀后备用。

**注: 本产品为即用型, 不要95°C加热处理。**

2. 电泳缓冲液配制:

将10× Tris-Tricine-SDS电泳缓冲液稀释成1×溶液, 一般每次电泳使用500ml溶液。

3. 电泳: 将电泳槽的内外槽加入1× Tris-Tricine-SDS电泳缓冲液, 轻柔拔出梳子, 将Marker (即用型, 直接上样) 和蛋白样品 (样品已经过2× Tricine上样缓冲液[Cat No: TP050]处理) 加入点样孔, 根据表二条件进行电泳。

表二 多肽电泳条件

恒电压	150v
起始电流	45-55 mA/板胶
结束电流	10-15 mA/板胶
电泳时间	2-3小时

### 三. 染色

根据常规实验步骤, 用配方5和6 (表三) 进行染色和观察。如果使用配方5进行染色时效果不好或考虑其毒性, 请选择本公司的FastBlue蛋白染色液 (Cat : RTD6202), 该产品能在5分钟之内看到条带, 15分钟完成蛋白的染色, 是常规染色液的理想替代品。

表三 小分子蛋白质SDS-PAGE电泳试剂配制

#### 1. 40%PAA (29:1) (配制浓缩胶)

丙稀酰胺 38.67 g

甲叉双丙稀酰胺 1.33 g

用ddH<sub>2</sub>O溶解后定容至100 ml, 过滤后使用。

贮存: 4°C避光

#### 2. 40%PAA (19:1) (配制分离胶)

丙稀酰胺 38 g

甲叉双丙稀酰胺 2 g

用ddH<sub>2</sub>O溶解后定容至100 ml, 过滤后使用。

贮存: 4°C避光

#### 3. 4×凝胶缓冲液 (配制凝胶用)

[3M Tris; 0.3% SDS; pH8.45]

Tris碱 182g

ddH<sub>2</sub>O 300ml

1.5 g SDS或15ml 10% SDS

用HCl调pH值至8.45 25°C

用ddH<sub>2</sub>O定容至500ml

贮存: 4°C

#### 4. 10×Tris-Tricine-SDS缓冲液

[1M Tris; 1M Tricine ;1% SDS; pH 8.3]

Tris碱 121.14 g

Tricine 179.2 g

SDS 10g

用ddH<sub>2</sub>O溶解, 定容至1000ml (不用调pH)。

贮存: 4°C

注: 使用前稀释成1×缓冲液使用

#### 5. 染色液

冰醋酸 100ml

考马斯亮蓝G-250 0.25g

水 900ml

#### 6. 脱色液

冰醋酸 100ml

水 900ml

#### 7. 2×Tricine上样缓冲液 (10ml)

1ml 1M Tris-Cl pH6.8

2.4 ml 甘油

0.8g SDS

0.31g DTT (或者400μl β-巯基乙醇)

2mg 考马斯亮蓝G-250

用灭菌ddH<sub>2</sub>O定容至10ml

混匀分装-20°C贮存备用

## 超低分子量蛋白电泳相关产品

名称	货号	规格
超低分子量蛋白电泳试剂盒	RTD6120	10次
超低分子量蛋白Marker I (3.3-22kD)	RTD6101	10次(100μl)
超低分子量蛋白Marker III (3.4-100kD)	RTD6125	10次(50μl)
超低分子量蛋白Marker IV (3.3-45kD)	RTD6127	10次(50μl)
彩虹预染超低分子量蛋白Marker (1.2-45kD)	RTD6110	10次(50μl)
40% PAA (19:1)	AC1914	100ml
40% PAA (29:1)	AC2914	100ml
4×凝胶缓冲液	GB010	100ml
灭菌水	DE005	100ml
10%APS/TEMED套装	-	5ml/0.5ml
10×Tris-Tricine-SDS电泳缓冲液(干粉)	CB010P	500ml
2×Tricine 上样缓冲液	TP050	10×1ml
FastBlue蛋白染色液	RTD6202	500ml
乙二醇	EA0582	25ml

### References

- Schägger, H. & von Jagow, G. Tricine-sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1-100 kDalton. *Anal. Biochem.* 166, 368-379 (1987).
- Schägger, H. Tricine-SDS-PAGE. *Nature Protocols.* 1,16-22 (2006)