



RTD6110

Ver. 740458

## 超低分子量蛋白Marker I (3.3-22 kD)

### 产品编号及规格:

RTD6101 10T(100 $\mu$ l)

### 储存、效期及运输:

-20 $^{\circ}$ C 贮存; 有效期1年; 湿冰运输。

### 产品简介:

超低分子量蛋白Marker I 用来测定SDS-PAGE上多肽和小蛋白的分子量, 由三种多肽和两种低分子量蛋白质组成。5条带的大小分别为3.3, 5.8, 7.8, 14.4, 22 kD。每次上样10  $\mu$ l, 该产品可以大约使用10次。

### 使用方法:

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, 使用后-20 $^{\circ}$ C 贮存。

#### 一. 制胶:

##### 1.1 配制分离胶

1.1.1 按照表一将不同体积的灭菌水、40%PAA (19:1)、4 $\times$ 凝胶缓冲液和乙二醇加入到小烧杯中混合。

1.1.2 加入10%APS和TEMED, 立即混匀5-10秒, 以使溶液充分混匀。

1.1.3 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。

1.1.4 25 $^{\circ}$ C 静置15-20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。

##### 1.2 配制浓缩胶

1.2.1 去除覆盖在分离胶上的水层, 用滤纸将残留水吸净。

1.2.2 按照表一将不同体积的双蒸水、40%PAA (29:1) 和凝胶缓冲液加入到小烧杯中混合。

1.2.3 加入10%APS和TEMED, 立即混匀5-10秒, 以使溶液充分混匀。

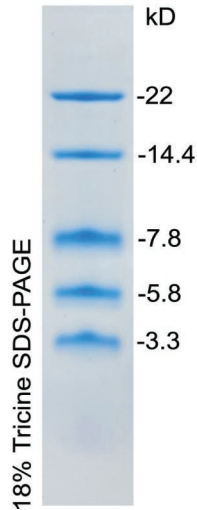
1.2.4 将梳子插入凝胶内, 避免产生气泡。

1.2.5 25 $^{\circ}$ C 静置30-60分钟装待凝胶聚合。

表一 (一块厚度1 mm 凝胶用量)

	分离胶	浓缩胶
	18%T, 5%C /5 ml	5%T, 3.3%C /2 ml
40% PAA (19:1)	2.25 ml	/
40% PAA (29:1)	/	0.25 ml
4 $\times$ 凝胶缓冲液	1.25 ml	0.5 ml
乙二醇 (电泳级)	1.5 ml	/
ddH <sub>2</sub> O	/	1.25 ml
10%APS	40-50 $\mu$ l	20 $\mu$ l
TEMED	4-5 $\mu$ l	2 $\mu$ l

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。可以根据表一的标准条件调节催化剂的加入量。



RTD6101

背面续

二. 电泳:

2.1 电泳缓冲液配制:

将10×阳极缓冲液 (Cat:AB080) 和10×阴极缓冲液 (Cat:CB010) 用蒸馏水稀释成1×缓冲液备用。

2.2 样品处理:

待上样的检测样品与2×Tricine上样缓冲液[Cat:TP050]等体积混合, 95℃处理5分钟后上样。超低分子量蛋白Marker I已经含有上样缓冲液, 95℃处理5分钟后直接上样, 1 mm厚10齿梳子上样10μl, 其他厚度凝胶适当调整后上样。

2.3 电泳:

将电泳槽的外槽加入1×阳极缓冲液, 内槽加入1×阴极缓冲液, 轻柔拔出梳子, 用1ml移液器将梳孔吹洗干净, 将Marker或蛋白样品加入点样孔, 稳压电泳 (表二), 至蓝色指示前沿距离分离胶上沿3/4位置时即可停止电泳。

表二 多肽电泳条件

恒电压	150 V
起始电流	60-75mA/板胶
终止电流	15-25mA/板胶
电泳时间	2.5-3小时

三. 染色

根据常规实验步骤, 用配方7和8 (表三) 进行染色和观察。如果使用配方7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 No:RTD6202), 该产品除具有染色快, 无毒, 灵敏性高等特点, 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) Cat:AC2914 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℃	2. 40%PAA(19:1)(配制分离胶) Cat:AC1914 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℃
3. 4×凝胶缓冲液(配制凝胶用) Cat:GB010 [3M Tris; 0.4% SDS; pH8.45] Tris碱 36.3 g; ddH <sub>2</sub> O 80ml 0.4 g SDS或4 ml 10% SDS 用HCl调pH值至8.45; 用ddH <sub>2</sub> O定容至100 ml 贮存: 4℃	4. 10×阳极缓冲液 (下槽缓冲液) Cat:AB080 [2M Tris pH8.9] Tris碱 121.1g ddH <sub>2</sub> O 400ml 用HCl调pH值至8.9 用ddH <sub>2</sub> O定容至500ml 贮存: 4℃ 注: 使用前稀释成1×阳极缓冲液使用。
5. 10×阴极缓冲液(上槽缓冲液) Cat:CB010 [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℃ 注: 使用前稀释成1×阴极缓冲液使用	6. 2×Tricine蛋白样品上样缓冲液 Cat:TP050 1ml 1M Tris-Cl pH6.8 2.4ml 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℃贮存备用
7. 染色液 冰醋酸 100ml 考马斯亮蓝G-250 0.25g 水 900ml	8. 脱色液 冰醋酸 100ml 水 900ml

名称	货号	规格
超低分子量蛋白Marker I (3.3-22kD)	RTD6101	10次
超低分子量蛋白Marker III (3.4-100kd)	RTD6125	10次
彩虹预染超低分子量蛋白Marker(1.2-45kD)	RTD6110	10次
40% PAA (19:1)	AC1914-01	100ml
40% PAA (29:1)	AC2914-01	100ml
4×凝胶缓冲液	GB010-100ml	100ml
灭菌水	DE005-100ml	100ml
10×阳极缓冲液	AB080	250ml
10×阴极缓冲液	CB010	100ml
2×Tricine 上样缓冲液 (变性, 还原)	TP050	10×1ml
FastBlue蛋白染色液	RTD6202-02	500ml
乙二醇	EA0582-100ml	100ml
超低分子量蛋白电泳试剂盒	RTD6120	10次
超低分子量蛋白电泳试剂盒 (非变性电泳)	RTD6121	10次

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)