



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// www.real-tims.com.cn

E-mail: real-times@163.com

超低分子量蛋白 Marker IV (3.3-45kD)

Ultra Low Molecular Weight Protein Marker IV

● 产品编号及规格:

RTD6127 10T (50 μ l)

● 储存条件:

-20 $^{\circ}$ C 保存, 开封后有效期 12 个月。

● 产品简介:

本产品包含 2 种多肽和 3 种低分子量蛋白质组成, 分子量范围为 3.3kD-45kD。可以用来判断 SDS-PAGE 上多肽和小蛋白的分子量。

● 使用说明:

第一次收到该产品, 室温融化后, 彻底混匀, 离心快甩将溶液完全收集到管底, 根据需要适量分装成小管, -20 $^{\circ}$ C 贮存, 每次取一小管使用; 本产品每次使用前, 要 95 $^{\circ}$ C 加热处理 5 分钟。

一. 制胶:

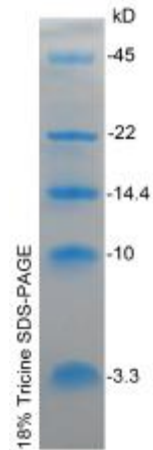
I 配制分离胶

1. 按照表一将不同体积的双蒸水、40%PAA (19:1)、凝胶缓冲液和乙二醇加入到小烧杯中混合。
2. 加入 10%APS 和 TEMED, 立即混匀 5-10 秒, 以使溶液充分混匀。
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 1-3 cm 的水层, 使凝胶表面保持平整。
4. 静置 5-10 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。

表一 (一块 0.75mm mini 胶用量)

	分离胶	浓缩胶
	18%T, 5%C /6.0 ml	5%T, 3.3%C/2 ml
40% PAA (19:1)	2.7 ml	/
40% PAA (29:1)	/	0.25 ml
4 \times 多肽电泳凝胶缓冲液	1.5 ml	0.5 ml
乙二醇 (电泳级)	1.8 ml	/
ddH ₂ O	/	1.25 ml
10%APS	50-65 μ l	20 μ l
TEMED	6 μ l	2 μ l

注: 如非必须, 不要使用 1.0mm 和 1.5mm 的凝胶, 尽量使用厚度 0.75mm 的凝胶, 这样会减少电泳后染色和脱色的时间。



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。

1. 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。
2. 加入 10%过硫酸铵和 TEMED，立即混匀 5-10 秒，以使溶液充分混匀。
3. 将梳子插入凝胶内，避免产生气泡。
4. 静置 20-30 分钟待凝胶聚合

二. 电泳:

1. 取一管分装好的 Marker 样品，彻底融化，**95°C加热处理 5 分钟**，充分混匀后备用。
2. 电泳前，将 10×Tris-Tricine-SDS 电泳缓冲液 (Cat No: CB010) 用蒸馏水稀释成 1×缓冲液备用。将电泳槽的内外槽加入 1×缓冲液，轻柔拔出梳子，将 Marker 或蛋白样品 (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，至蓝色指示前沿至分离胶 3/4 位置时即可停止电泳。整个电泳过程大约需要 2-3 个小时。**注: 如果电泳时间过短，染色时，指示前沿容易遮挡小于 5kd 的小肽。**

表二 多肽电泳条件

恒电压	150 V
起始电流	45-55 mA
结束电流	10-15 mA
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 No: RTD6202)**，该产品能在 5 分钟之内完成蛋白的染色，不至于小肽在染色和脱色中从凝胶中脱离，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 No:AC2914 丙稀酰胺 38.67 g 甲叉双丙稀酰胺 1.33 g 用 ddH ₂ O 溶解后定容至 100 ml, 过滤后使用。 贮存: 4°C 避光保存	2. 40% PAA (19:1) (配制分离胶) Cat No:AC1914 丙稀酰胺 38 g 甲叉双丙稀酰胺 2 g 用 ddH ₂ O 溶解后定容至 100 ml, 过滤后使用。 贮存: 4°C 避光保存	3. 4×多肽电泳凝胶缓冲液 (配制凝胶用) [3M Tris; 0.3% SDS; pH8.45] Cat No:GB010 Tris 碱 182g ddH ₂ O 300ml 1.5 g SDS 或 15ml 10% SDS 用 HCl 调 pH 值至 8.45 用 ddH ₂ O 定容至 500ml 贮存: 4°C
4. 10×Tris-Tricine-SDS 电泳缓冲液 [1M Tris; 1M Tricine ;1% SDS; pH 8.3] Cat No:CB010 Tris 碱 121.14 g Tricine 179.2 g SDS 10g 用 ddH ₂ 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 100 ml 甲醇 450 ml 考马斯亮蓝 G-250 0.25 g 水 450 ml 6. 脱色液 冰醋酸 100ml 水 900ml	7. 2×Tricine 蛋白样品上样缓冲液 (10ml) Cat No: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 ₂ O 定容至 10ml 混匀分装-20°C 贮存备用