

## 预染超低分子量蛋白质Marker (3.3kD-31.0kD)说明书

**货号：** AC13941

**规格：** 20T (200  $\mu$ l)

**保存：** -20 $^{\circ}$ C保存，有效期为一年。避免反复冻融，建议分装冻存。

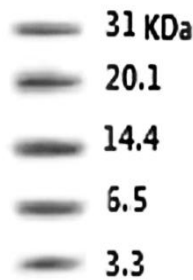
### 产品简介:

本产品包含预染的3种多肽和2种低分子量蛋白质组成，分子量范围为3.3kD-31.0kD。可以用于直接观察蛋白质电泳状况以及清晰地判断Western Blot的转膜效果。经Tricine-甘油SDS-PAGE凝胶电泳时以及转移到PVDF或NC膜上可看到清晰的5条蓝色的蛋白条带。本品为蛋白质和多肽混合物的冻干粉，每种预染蛋白含量约为40 $\mu$ g，配有一支1 $\times$ 上样缓冲液。

### 使用说明:

1. 开封后，溶于200  $\mu$ l 1 $\times$ 上样缓冲液，可根据需要进行小量分装，每管10  $\mu$ l，-20 $^{\circ}$ C贮存，每次取一管使用，避免反复冻融。
2. 使用前取分装后的小管室温融化后即可上样电泳。

电泳示意图:



### 凝胶的配置方法:

	分离胶			夹层胶	浓缩胶
	20%/4.5ml	16.5%/4.5ml	15.5%/4.5ml	10%/2ml	4%/2ml
49.5%T 3%C	/	/	/	0.407ml	0.160ml
49.5%T 6%C	1.82ml	1.50ml	1.395ml	/	/
凝胶缓冲液	1.50ml	1.50ml	1.50ml	0.667ml	0.496ml
甘油	0.48ml	0.48ml	0.48ml	/	/
ddH <sub>2</sub> O	0.70ml	1.02ml	1.125ml	0.926ml	1.344ml
10%PAGE胶凝固剂	40 $\mu$ l	40 $\mu$ l	40 $\mu$ l	20 $\mu$ l	20 $\mu$ l
PAGE胶促凝剂	5 $\mu$ l	5 $\mu$ l	5 $\mu$ l	3 $\mu$ l	3 $\mu$ l

### 凝胶制备及染色注意事项:

1. 先配制分离胶，聚合后再配制夹层胶，最后配制浓缩胶，3种胶的制胶体积比为4:1.5:1。电泳时，30V跑1-2h后，待指示前沿到达分离胶上沿时，把电压调至100V，至电泳结束，整个电泳过程大约需要6-8h。

2. 电泳之后可将胶置于固定液中固定 20min，再进行染色，能得到较好的蛋白条带；如时间不允许，也可不进行固定直接染色。如果使用配方 7 进行染色时效果不好或考虑其毒性，请选择本公司的考马斯亮蓝蛋白胶快速染色液(货号:P1300)，该产品具有染色快，无毒，灵敏性高等特点，是常规染色液的替代品。
3. 由于多肽所含的氨基酸数目较少，因此如该多肽含有过多的极性氨基酸(碱性或酸性)，则会影响其在 SDS-PAGE 图上的条带迁移率，即其表观分子量可能和多肽的氨基酸理论推算分子量有一定距离。
4. 由于 SDS-PAGE 的图谱上，蛋白质对数分子量和迁移率成正比直线关系的分子量范围为 15,000-200,000，因此对于分子量小于 10000 的蛋白质或多肽的分子量，只能根据标准分子量进行估计，推断其是否落入预测的分子量范围。
5. 由于超低分子量多肽（3000及3000以下），极易从凝胶上浸出，因此染色及脱色时间不宜太长，脱色后凝胶也不宜在水中浸泡保存过久，否则条带会消失。

#### 附:小分子蛋白质SDS-PAGE电泳试剂配制

1. 49.5% T 3% C (配制夹层胶和浓缩胶)  
Acr 48g  
Bis 1.5g  
用ddH<sub>2</sub>O溶解后定容至100ml
2. 49.5% T 6% C (配制分离胶)  
Acr 46.5g  
Bis 3.0g  
用ddH<sub>2</sub>O溶解后定容至100ml
3. 凝胶缓冲液  
Tris碱 182g  
ddH<sub>2</sub>O 300ml  
用HCl调节pH值至8.45  
用ddH<sub>2</sub>O定容至 500ml  
再加入SDS 1.5g
4. 10×阳极缓冲液(下槽缓冲液)  
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
5. 阴极缓冲液(上槽缓冲液)  
Tris碱 12.11g  
Tricine 17.92g  
SDS 1g  
用ddH<sub>2</sub>O定容至1000ml  
此溶液不用调节pH值
6. 固定液  
0.5% 戊二醛  
30% 乙醇  
用ddH<sub>2</sub>O定容至100ml
7. 染色液  
50% 甲醇  
10% 乙酸  
0.2% 考马斯亮蓝G-250用ddH<sub>2</sub>O定容至500ml