



扫描二维码打开中科瑞泰官网  
www.real-times.com.cn

Ver 730274

## 彩虹预染超低分子量蛋白质Marker (1.2-45kD)

### 产品编号及规格:

RTD6110 10 T(50  $\mu$ l)

### 储存及效期:

-20 $^{\circ}$ C 贮存; 有效期12个月。

### 产品简介:

彩虹预染超低分子量蛋白质Marker可以直接观察蛋白电泳及清晰判断Western Blotting的转膜效果。本产品包含3种多肽和3种低分子量蛋白质组成, 分子量范围为1.2-45kD, 分子量大小为1.2kD, 4.6kD, 10kD, 16kD, 27kD, 45kD。

### 使用方法:

第一次收到该产品, 常温溶化, 彻底混匀, 离心快甩将溶液完全收集到管底; 本产品为即用型溶液, 已经含有了上样缓冲液, **溶化后直接上样, 不能加热处理。**

#### 一. 制胶:

##### I 配制分离胶

- 按照表一将不同体积的双蒸水、40%PAA(19:1), 4 $\times$ 凝胶缓冲液和乙二醇加入到小烧杯中混合。
- 加入10%APS和TEMED, 立即混匀5-10秒, 以使溶液充分混匀。
- 在玻璃板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的无水乙醇, 使凝胶表面保持平整。
- 静置3-15分钟, 待分离胶和乙醇层之间出现一个清晰的界面表示凝胶已聚合。

**注: 分离胶25 $^{\circ}$ C时3-5分钟可以聚合; 18 $^{\circ}$ C15分钟可以聚合。**

##### II 配制浓缩胶

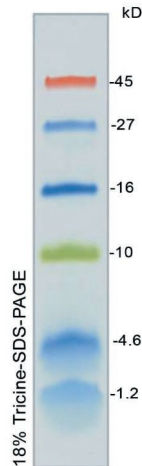
去除覆盖在分离胶上的乙醇层, 用滤纸将残留的醇吸去。

- 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。
- 加入10%APS和TEMED, 立即混匀5-10秒, 以使溶液充分混匀。
- 将梳子插入凝胶内, 避免产生气泡。
- 静置20-40分钟待凝胶聚合。

**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。浓缩胶37 $^{\circ}$ C 20分钟, 25 $^{\circ}$ C 30分钟, 18 $^{\circ}$ C 40分钟可以聚合。**

表一 (一块厚度1.0 mm 凝胶用量)

	分离胶	浓缩胶
	18%T, 5%C /5.0 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	50 $\mu$ l	20 $\mu$ l
TEMED	5 $\mu$ l	2 $\mu$ l



## 二. 电泳:

### 1. 电泳缓冲液配制:

电泳前, 将10×阳极缓冲液 (Cat No.:AB080) 和10×阴极缓冲液 (Cat No.:CB010) 用蒸馏水稀释成1×缓冲液备用。

### 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。蛋白Marker已经含有上样缓冲液, 预染Marker (Cat:RTD6110)不能加热处理, 溶化混匀后直接上样。

### 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, 将Marker或蛋白样品加入点样孔, 稳压电泳 (电泳条件参考下表),

恒电压	150 V
起始电流	60-75 mA/板胶
结束电流	15-25 mA/板胶
电泳时间	2.5 小时+

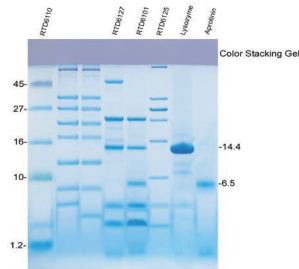
待指示前沿到达分离胶上沿时, 即可停止电泳。

## 4. 染色 (FastBlue蛋白染色液):

- 4.1 将电泳后的PAGE胶取下放入塑料容器中, 用适量蒸馏水漂洗, 去除胶表面的SDS, 残余SDS会导致染色液出现沉淀。  
4.2 弃蒸馏水, 加入适量染色液 (以刚刚覆盖过胶面为适), 摇床上常温摇动, 根据下表确定染色时间。

待检测蛋白量	染色时间
> 1 µg	2 分钟
100 ng-1 µg	10-20分钟
10 ng-100 ng	30-60分钟

## 三. 实验示例:



18% Tricine Gel 1×Tris-Tricine-SDS电泳缓冲液  
稳压150V 2.5h FastBlue蛋白染色液染色

## 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℃	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℃
3. 4×凝胶缓冲液 (配制凝胶用) [3 M Tris; 0.4% SDS; pH8.45] Tris碱 36.4 g ddH <sub>2</sub> O 80 ml 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) [2 M Tris pH8.9] Tris碱 121.1 g ddH <sub>2</sub> O 400 ml 用HCl调pH值至8.9 用ddH <sub>2</sub> O定容至500 ml 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) [1M Tris;1M Tricine;1% SDS;pH 8.3] Tris碱 121.14 g Tricine 179.2 g SDS 10 g 用水溶解, 定容至1000 ml(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 1ml 1M Tris-Cl pH6.8 2.4 ml 甘油 0.8 g SDS 0.31 g DTT (或者400 µl β-巯基乙醇) 2 mg 考马斯亮蓝G-250 用灭菌ddH <sub>2</sub> O定容至10 ml 混匀分装-20℃贮存备用
7. 染色液 冰醋酸 100 ml 考马斯亮蓝G-250 0.25 g 水 900 ml	8. 脱色液 冰醋酸 100 ml 水 900 ml

## 相关产品:

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
超低分子量蛋白Marker IV (3.3-45 kD)	RTD6127	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	100ml
40% PAA (29:1)	AC2914	100ml
4×多肽电泳凝胶缓冲液	GB010	100ml
灭菌水	DE005	100ml
10%凝胶促凝剂	AP020P	5 ml
10×阳极缓冲液	AB080	250ml
10×阴极缓冲液	CB010	100ml
10×Tris-Tricine-SDS缓冲液(干粉型)	CB010P	500ml
10×Tris-Tricine缓冲液 (干粉型)	CB020P	500ml
2×Tricine多肽上样缓冲液 (变性, 还原)	TP050	10×1ml
2×Tricine多肽上样缓冲液 (变性, 非还原)	TP060	10×1ml
FastBlue染色液	RTD6202	500ml
乙二醇	EA0582	5×25ml