



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

彩虹预染超低分子量蛋白质 Marker III (1.5-45 kD)

Rainbow Prestained Ultra Low Molecular Weight Protein Marker III (1.5-45 kD)

●产品编号及规格:

RTD6147 10 T (50 µl)

● 储存、运输及效期:

-20℃保存，湿冰运输，有效期1年。

● 产品简介:

彩虹预染超低分子量蛋白质 Marker III 可以直接观察蛋白电泳及清晰判断 Western Blotting 的转膜效果。本产品由7种多肽和蛋白质组成，分子量大小为 1.5 kD, 4 kD (红色), 8 kD, 15 kD (绿色), 20 kD, 30 kD, 45 kD (注: 蛋白大小已在 18%Tricine-SDS-PAGE 中用非预染蛋白 Marker 标定过。)

● 使用说明:

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。

一. 制胶:

说明: 可以根据以下步骤自己制备凝胶。也可以选择 Tris-Tricine-PAGE 凝胶制备及电泳试剂盒 (货号: RTD6122) 或超低分子量蛋白电泳试剂盒 (货号: RTD6120) 进行实验。

1.1 配制分离胶

1.1.1 按照表1将组份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。

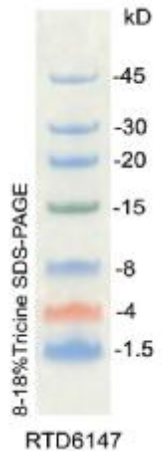
1.1.3 在玻璃板中迅速灌入适量分离胶溶液，使液面和短玻璃板上沿之间的距离比梳齿长 0.5 cm 即可 (注: 此溶液为过量，请勿全部注入)。然后在分离胶溶液上轻轻覆盖一层 1-2 cm 的无水乙醇，使凝胶表面保持平整。

1.1.4 静置 15-30 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: 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1的标准条件调节促凝剂的加入量。分离胶 25℃条件下，约 20 分钟可以聚合。

表1 (一块 1 mm mini 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×凝胶缓冲液	1.25 ml	0.5 ml
乙二醇 (电泳级)	1.5 ml	/
ddH ₂ O	/	1.25ml
10%APS	~50 µl	~20 µl
TEMED	~5 µl	~2 µl



1.2 配制浓缩胶

1.2.1 去除覆盖在分离胶上的乙醇层，用滤纸将残留乙醇吸去；按照表 1 将各组份加入到小烧杯中混合。

1.2.2 加入 10%过硫酸铵和 TEMED，立即混匀 5-10 秒，以使溶液充分混匀；加入到分离胶上至溶液溢出。

1.2.3 将梳子插入凝胶内，避免产生气泡。

1.2.4 静置 30-60 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。可以根据标准条件(表 1)调节催化剂的加入量。浓缩胶 25℃下，约 40 分钟可以聚合。

二. 电泳:

2.1 取 Marker 样品，充分混匀后备用。不要加热处理。

2.2 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。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 (已经过 2×Tricine 上样缓冲液 [Cat No: TP050] 处理) 加入点样孔，参考下表进行电泳，至每条带都清晰可见时停止电泳。整个电泳过程大约需要 2-3 个小时。

表 2 多肽电泳条件

恒电压	150V
起始电流	60-75mA/板胶
结束电流	15-25mA/板胶
电泳时间	2-3 小时

三. 染色

根据常规实验步骤，用配方 6 和 7 (表 3) 进行染色和观察。如果使用配方 6 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，灵敏性高等特点外，还能对小肽在染色中起到固定作用，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 3 小分子蛋白质 SDS-PAGE 电泳试剂配制

1. 40%PAA (29:1) (配制浓缩胶) 货号: 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℃	2. 40% PAA (19:1) (配制分离胶) 货号: 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℃	3. 4×凝胶缓冲液 (配制凝胶用) 货号: GB010 [3 M Tris; 0.4% SDS; pH8.45] Tris 碱 36.3 g; 水 80ml; 0.4 g SDS 或 4 ml 10% SDS 用 HCl 调 pH 值至 8.45; 水定容至 100 ml; 贮存: 4℃
4. 10×阳极缓冲液 (下槽缓冲液) 货号: AB080 [2 M Tris pH8.9] Tris 碱 121.1g; ddH ₂ O 400ml; 用 HCl 调 pH 值至 8.9; 用 ddH ₂ 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) 货号: CB010 [1 M Tris; 1 M Tricine ;1% SDS; pH 8.3] Tris 碱 121.14 g; Tricine 179.2 g; SDS 10 g 用 ddH ₂ O 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. 染色液 货号: RTD6203 冰醋酸 100 ml 考马斯亮蓝 G-250 0.25 g 水 900 ml
7. 脱色液 货号: RTD6204 冰醋酸 100 ml 水 900 ml	8. 2×Tricine 蛋白样品上样缓冲液 (10ml) 货号: TP050 1ml 1M Tris-HCl 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; 用灭菌水定容至 10ml 混匀分装-20℃贮存备用	