

超低分子量蛋白质Marker (3.3kD-20.1kD)说明书

货号: BN27016

规格: 15T (150 μ L)

保存: -20 $^{\circ}$ C保存, 有效期为一年。

产品简介:

本产品包含3种多肽和2种低分子量蛋白质组成, 分子量范围为3.3kD-20.1kD。可以用来判断SDS-PAGE上多肽和小蛋白的分子量。本品为蛋白质和多肽混合物的冻干粉, 每种蛋白含量约为15-22.5 μ g, 配有一支1 \times 上样缓冲液。

使用说明:

1. 开封后, 溶于150 μ l 1 \times 上样缓冲液, 沸水浴5分钟, 可根据需要进行小量分装, 每管10 μ 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, 沸水浴5分钟即可上样电泳, 用考马斯亮蓝G-250染色后可见5条蛋白带(见下示意图)。



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 ₂ O | 0.70mL | 1.02mL | 1.125mL | 0.926mL | 1.344mL |
| 10%APS | 40 μ L | 40 μ L | 40 μ L | 20 μ L | 20 μ L |
| TEMED | 5 μ L | 5 μ L | 5 μ L | 3 μ L | 3 μ 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1-2小时后, 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6-8小时。
2. 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。

3. 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。
4. 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。
5. 电泳之后可将胶置于固定液中固定20分钟，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。

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) | 用HCl调pH值至8.9 |
| 丙烯酰胺 48g | 用ddH ₂ O定容至 500mL |
| 甲叉双丙烯酰胺 1.5g | |
| 用ddH ₂ O溶解后定容至100mL | 5. 阴极缓冲液(上槽缓冲液) |
| | Tris碱 12.11g |
| 2. 49.5% T 6% C (配制分离胶) | Tricine 17.92g |
| 丙烯酰胺 46.5g | SDS 1g |
| 甲叉双丙烯酰胺 3.0g | 用ddH ₂ O定容至1000mL |
| 用ddH ₂ O溶解后定容至100mL | 此溶液不用调节pH值 |
| | |
| 3. 凝胶缓冲液 | 6. 固定液 |
| Tris碱 182g | 0.5% 戊二醛 |
| ddH ₂ O 300mL | 30% 乙醇 |
| 用HCl调节pH值至8.45 | 用ddH ₂ O定容至100mL |
| 用ddH ₂ O定容至 500mL | |
| 再加入SDS 1.5g | 7. 染色液 |
| | 50% 甲醇 |
| 4. 10×阳极缓冲液(下槽缓冲液) | 10% 乙酸 |
| Tris碱 121.1g | 0.2% 考马斯亮蓝G-250 |
| ddH ₂ O 400mL | 用ddH ₂ O定容至500mL |