

超低分子量蛋白质Marker (3.3kD-20.1kD)说明书

货号: DEM016

规格: 15T (150 μ L)

保存: -20℃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℃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)

丙烯酰胺 48g

甲叉双丙烯酰胺 1.5g

用ddH₂O溶解后定容至100mL

2. 49.5 % T 6 % C (配制分离胶)

丙烯酰胺 46.5g

甲叉双丙烯酰胺 3.0g

用ddH₂O溶解后定容至100mL

3. 凝胶缓冲液

Tris碱 182g

ddH₂O 300mL

用HCl调节pH值至8.45

用ddH₂O定容至 500mL

再加入SDS 1.5g

4. 10×阳极缓冲液(下槽缓冲液)

Tris碱 121.1 g

ddH₂O 400mL

用HCl调pH值至8.9

用ddH₂O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ddH₂O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ddH₂O定容至100mL

7. 染色液

50% 甲醇

10% 乙酸

0.2% 考马斯亮蓝G-250

用ddH₂O定容至500mL