

超低蛋白 Marker

货号: DBMK01

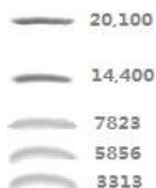
保存: -20℃保存。

产品说明:

SDS-PAGE 超低分子量标准品用来测定 SDS-PAGE 上多肽和小蛋白的分子量, 该产品由三种多肽和两种低分子量蛋白质组成, 分子量范围 3, 313-20,100 道尔顿。

规格: 本品经 Tricine-甘油 SDS-PAGE 电泳后, 用考马斯亮蓝 G-250 染色可获得清晰的条带。

组成及电泳图



使用方法: 使用前置室温融化后取 5μL 上样。

聚丙烯酰胺凝胶制备

1) 49.5%T 3%C

丙烯酰胺 (Acrylamide) 48g
双丙烯酰胺 (Bis-Acrylamide) 1.5g
加 ddH₂O 溶解, 定容到 100ml

2) 49.5%T 6%C

丙烯酰胺 46.5g
双丙烯酰胺 3.0g
加 ddH₂O 溶解, 定容到 100ml

3) 凝胶缓冲液

Tris · HCl SDS pH 8.45
Tris 182g
ddH₂O 300 ml
用 HCl 调 pH 8.45, 补足 ddH₂O 到 500 ml
加 SDS 1.5g

4) 阳极缓冲液 10×

Tris 121.1g
ddH₂O 400 ml
用 HCl 调 pH 8.9, 补足 ddH₂O 到 500 ml

5) 阴极缓冲液

Tris 12.11g
Tricine 17.92g
SDS 1g
加 ddH₂O 溶解, 定容到 1000ml

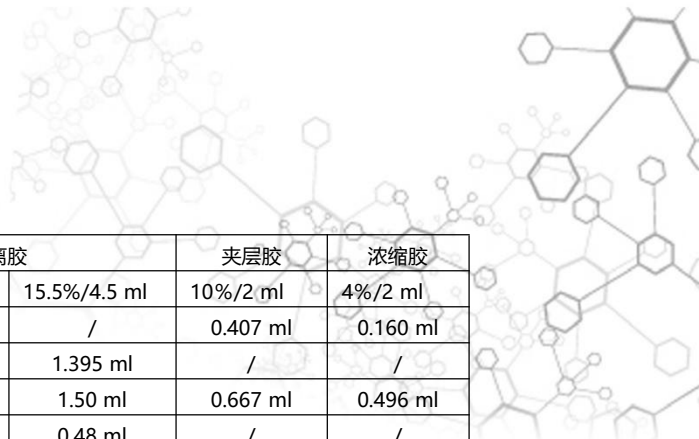
6) 固定液:

0.5% 戊二醛
30% 乙醇
加 ddH₂O 到 100ml

7) 染色液:

50% 甲醇
10% 乙酸
0.2% G-250
加 ddH₂O 到 500ml





	分离胶			夹层胶	浓缩胶
	20%/4.5 ml	16.5%/4.5 ml	15.5%/4.5 ml	10%/2 ml	4%/2 ml
49.5%T 3%C	/	/	/	0.407 ml	0.160 ml
49.5%T 6%C	1.82 ml	1.50 ml	1.395 ml	/	/
凝胶缓冲液	1.50 ml	1.50 ml	1.50 ml	0.667 ml	0.496 ml
甘油	0.48 ml	0.48 ml	0.48 ml	/	/
ddH ₂ O	0.70 ml	1.02 ml	1.125 ml	0.926 ml	1.344 ml
10%AP	40 μl	40 μl	40 μl	20 μl	20 μl
TEMED	5 μl	5 μl	5 μl	3 μl	3 μl

先制备分离胶，聚合后，再制备夹层胶，最后制备浓缩胶。三种胶长度比例 4:1.5:1。

电压: 30 V 1 小时

100 V 至结束

电泳之后将胶在固定液中固定 20 分钟(可选择)，再进行染色，一般染色 20 - 30 分钟，即可脱色。

使用者注意事项:

1. 超低分子量多肽的 SDS-PAGE 制备和操作远较常规的 SDS-PAGE 方法复杂,初学者一开始可能结果不理想,但经一二次操作后,可获得理想结果。
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。

