



RTD6104

Ver.750780-1.0

宽分子量非变性电泳蛋白质Marker III (21-1000 kD)

产品编号及规格:

RTD6104

20次(100 µl)

贮存、效期及运输:

-20℃ 贮存, 有效期1年。
湿冰运输。

技术规格:

主条带数量	8条
贮存缓冲液	50 mM Tris pH7.5, 15%甘油, 溴酚蓝等
浓度	0.2-0.4 µg/µl
上样前处理	溶化混匀后直接上样, 不要加热处理
推荐凝胶体系	4-15%Tris-甘氨酸非变性凝胶; 3-12%或4-16% Blue Native凝胶
推荐上样体积	5 µl (1mm厚度10齿梳子)
推荐染色方法	非预染Marker, 电泳时不可见条带, 电泳后需要考马斯亮蓝染色可以观察条带
不适用于变性电泳	为非变性Marker, 不适用于变性电泳

产品简介:

本产品含有6种蛋白, 分子量范围为21-1000 kD, 经过非变性电泳后, 用考马斯亮蓝染色后可以观察到8条主带。

蛋白名称	来源	pI	分子量 kD	说明
PR1	equine	N/A	~1000	非变性下1000 kD
Ferritin	equine spleen	N/A	~440,880	非变性下440和880 kD
RC2	重组蛋白	6.7	~200	单体蛋白分子量为75 kD, 在Tris-甘氨酸非变性下表现为分子量~200 kD
RC1	重组蛋白	4.7	~66,132	单体蛋白分子量为~66 kD, 在Tris-甘氨酸非变性下表现为单体(分子量~66 kD)和二聚体(分子量~132 kD)
Ovalbumin	egg white	5.2	~45	球蛋白, 分子量为45kD, 非变性条件下大于45kD会出现电荷异构体(charge isomer)
Trypsin Inhibitor	Soybean	4.5	~21	非变性下21 kD

使用方法:

- 取出产品后, 常温溶化, 彻底混匀, 上样电泳。
注:上样量根据胶的厚度和梳子的宽度确定。一般说来, 1.0mm厚度10齿梳子加样孔上样5µl, 1.0mm厚度15齿梳子加样孔上样量2.5 µl, 其他规格梳子请适当调整上样量。
- 该产品不含蛋白凝胶制备试剂, 您可以选择非变性PAGE凝胶制备及电泳试剂盒(货号: RTD6130或RTD6135)。如自备试剂, 经典Tris-甘氨酸系统中把制胶溶液、电泳缓冲液和上样缓冲液中的SDS和还原剂(DTT或β-巯基乙醇)全部去除即可进行非变性电泳。
- 电泳条件:
建议使用4~15%非变性梯度胶进行电泳。

恒电压	120 V
起始电流	27-35 mA
结束电流	7-10 mA
电泳时间	50-60 min

- 注: 恒压电泳, 电流无法调节, 会逐渐降低。
- 电泳结束后, 考马斯亮蓝染色, 观察结果。
注: 使用银染染色时, 由于灵敏度高于考马斯亮蓝染色方法, 需要适当降低Marker上样量, 一般稀释20~50倍后上样。

注意事项:

1. 该产品仅适用于酸性蛋白非变性电泳, 不适用于变性电泳和碱性蛋白非变性电泳。非变性蛋白电泳条件下, 不能精确判断蛋白的分子量大小, 更多是作为相对参照。因为在非变性条件下, 蛋白的电荷, 空间结构, 物化性质都对蛋白的迁移有影响, 所以非变性电泳的蛋白分子量需谨慎解读并结合其他方法(如SEC-HPLC)验证。
2. 非变性蛋白电泳Marker由于要保持蛋白的天然结构, 都没有偶联染料, 在电泳时基本都看不到条带, 但是RTD6104中的440 kD由于天然蛋白中含有铁离子, 使得电泳后在胶上可见淡黄色, 凝胶转膜后, 膜上也可以看到黄色的440 kDa条带, 可以大体判断Marker转膜的效果。

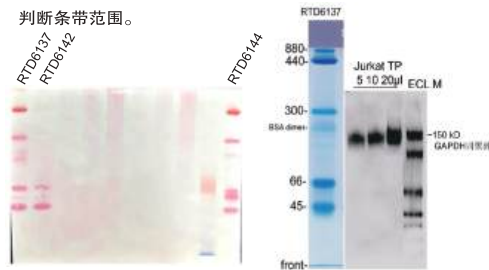


凝胶

膜

3. 有两种方法可以解决非变性Marker转膜后条带显示问题: 第一种方法: 凝胶转膜后用丽春红染色液(货号: RTD6301)染膜, 可以看到Marker条带, 顺便可以检测

转膜效率, 然而要注意的是丽春红染色灵敏度比较低, 可能不能完全看到完整的Marker条带。第二种方法: 电泳结束后, 把含有Marker泳道的凝胶切下, 单独用考马斯亮蓝染色液染色, 剩余的凝胶去完成转膜到ECL发光检测过程, 最后的发光结果和Marker染色结果拼接判断条带范围。

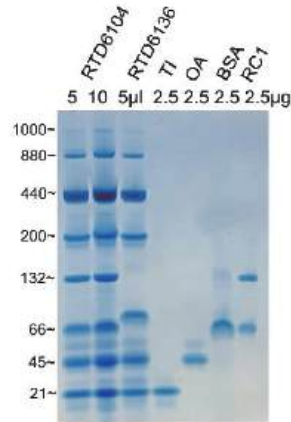


4-15%非变性电泳, NC膜丽春红染色 Marker泳道染色 ECL发光图

4. 推荐使用4-15%的非变性聚丙烯酰胺凝胶(货号: RTD6135)或者3-12%和4-16% RealPAGE Native BN/CN预制胶(货号:RTD6139)进行电泳。其他浓度凝胶并非不适用, 然而条带迁移位置可能会有变化, 因为非变性蛋白Marker迁移率不仅受分子量影响, 还受诸多因素如凝胶体系的影响。

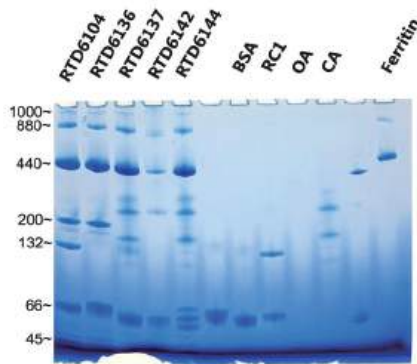
实验示例:

1. Tris-甘氨酸非变性电泳(4-15%):



电泳条件: 1×TG 200V 50-19 mA 47 min
染色: FastBlue蛋白染色液, 20 min

2. Blue-Native电泳(4-16%):



电泳条件: 1×蓝色缓冲液 150 V 7.5-1.5 mA 65 min;
更换为1×无色缓冲液 300 V 30 min
染色: FastBlue蛋白染色液, 20 min