

产品概述

180 kDa Prestained Protein Marker 由三种颜色预染的 10 种不同分子量大小的蛋白质组成, 分子量范围为 13-180 kDa。其中 75 kDa 为橙红色条带, 13 kDa、17 kDa、36 kDa、45 kDa、60 kDa、100 kDa、140 kDa、180 kDa 为蓝色条带, 25 kDa 为绿色条带。本产品用于 SDS-PAGE 实验中, 可清晰地指示电泳进程, 较为准确地判断目标蛋白的分子量; 在 Western blot 实验中, 可用于监测 PVDF 膜或 NC 膜的转膜效果以及判断目标蛋白的检测情况; 本产品可应用于 Tris-Glycine 胶和 Bis-Tris 胶的不同缓冲液体系 (Tris-Glycine、MOPS 和 MES), 本产品的蛋白条带均经非预染蛋白 Marker 校准, 条带大小准确。本品推荐上样量为 5 μ L。

试剂组成

Components	BR4C303-01 100 rxns	BR4C303-02 500 rxns
180 kDa Prestained Protein Marker	1 $\times$ 0.5 mL	5 $\times$ 0.5 mL

注: 缓冲液成分: 62.5 mM Tris-HCl(pH7.5), 1 mM EDTA, 2%(W/V)SDS, 10 mM DTT, 33%(W/V)glycerol。

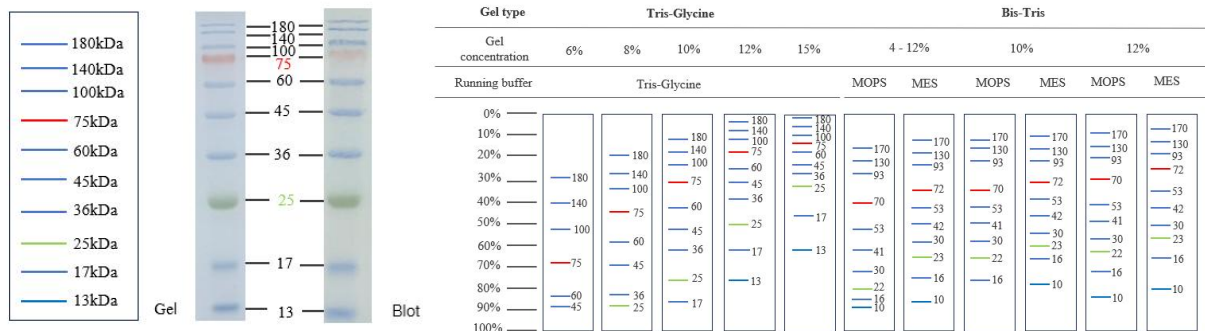
保存条件

-20 $\pm$ 5 $^{\circ}$ C 存储。

使用方法

1. 本品为即用型产品。室温放置数分钟解冻后, 轻轻摇匀, 以确保溶液混合均匀, 瞬时离心后使用。
2. 取 5 μ L 该样品至点样孔中进行凝胶电泳(若点样孔较宽或凝胶较厚, 可适当增加上样量)。

下图为本公司预染蛋白 Marker 的条带分子量大小示意图和不同电泳条件下的迁移模式图。



注意事项

1. 本产品仅作科研用途, 不用于临床诊断。
2. 本产品使用方便, 无需加热、稀释或添加其他还原剂。使用前混匀, 避免反复冻融。该产品仅适用于变性电泳, 不适用于非变性电泳。
3. 在 Western blot 实验中, 大分子蛋白 (>100 kDa) 的转膜可能需要更长的时间或更高的电流。
4. 预染蛋白 Marker 在不同的 SDS-PAGE 缓冲液中具有不同的迁移率, 在用于判断目的蛋白分子量时仅供参考。
5. 推荐使用 12% 分离胶进行电泳, 在低浓度凝胶中, 低分子量蛋白迁移过快, 易与电泳指示剂 (溴酚蓝) 的前沿条带重叠,

导致分辨率下降。

6. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

常见问题和解决方案

1. Marker 小分子条带浅/大分子条带浅?

配胶操作: 若分离胶与浓缩胶的界面不够平整, 在后续跑胶过程中易引发该现象。建议配胶时充分混匀凝胶溶液(温和颠倒, 避免剧烈搅拌产生气泡), 灌胶时匀速缓慢倾倒, 插入梳子前确保分离胶溶液凝固完全, 插入时垂直轻放, 避免扰动胶面。

电泳槽的密封状态: 一旦电泳槽存在封闭不严的情况, 会直接导致电压不稳定, 从而造成跑胶条带倾斜。建议电泳前检查槽盖卡扣, 查看密封圈状态, 若缓冲液有渗漏, 断电后重新补充缓冲液, 确保液面高度一致、槽体密封良好后, 再重新电泳。

上样量: 上样量不准确可能是诱因之一, 建议重新校正上样量后再进行尝试。

边缘效应: 点样时应注意避免靠近胶的两侧位置。建议点样时枪头对准加样孔中心缓慢加样, 若胶板两侧条带异常, 可适当提高中间加样孔的上样量(补偿边缘效应影响)。

2. 蛋白 Marker 条带弥散或模糊?

凝胶制备方面: 需确认分离胶的浓度是否与 Marker 的分子量范围相匹配。同时, 要保证凝胶完全凝固, 避免因凝胶结构不稳定导致条带扩散。

电泳条件方面: 电压设置需合理, 电压过高会因产热过多导致蛋白变性, 电压过低则会使蛋白迁移过慢, 均可造成条带模糊。

另外, 应使用新鲜配制的电泳缓冲液, 反复使用的电泳液离子强度下降、pH 值改变, 将影响条带清晰度。

Marker 处理与上样方面: 预染蛋白 Marker 应避免反复冻融(可分装后保存), 使用前需充分解冻并混匀。上样量也需注意, 过多会导致蛋白在胶中拥挤而无法有效分离, 过少则条带信号弱, 建议按照说明书使用, 控制上样量在 5 μ L 左右。

染色与脱色方面: 若进行染色(如考马斯亮蓝染色), 需控制好染色和脱色时间。染色时间不足或脱色不充分会导致背景过深, 掩盖条带; 染色时间过长或脱色过度则可能使条带颜色变浅或模糊。

3. 预染蛋白 Marker 电泳后清晰, 但是转膜后颜色变淡?

通常情况下, 转膜后 Marker 条带会更鲜亮, 如果颜色变淡, 可能有几种情况:

转膜温度过高: 蛋白分子热运动加剧, 易从膜上脱落或结构受损。

胶和滤纸存在微小气泡或空隙: 会使电场分布不均, 蛋白转移不连续、不充分。气泡阻隔区域蛋白无法有效转膜, 表现为条带局部变淡甚至缺失。

转膜条件不适合: 转膜时间过长可能透膜, 转膜时间过短, 蛋白可能残留在胶内; 转膜电压过高, 蛋白迁移过快, 易造成转移不均(边缘快、中间慢)。另外建议转膜液不添加 SDS, 若实验必须使用, 建议 SDS 浓度要控制在 0.02-0.04% 之间。

膜没有充分活化: 甲醇浓度太高易造成蛋白穿膜, 转移到滤纸上; 未活化也可能导致膜吸附蛋白能力不强。

膜孔径不适合: 建议分子量小于 20 kDa 的蛋白使用 0.22 μ m 膜, 分子量大于 20 kDa 的蛋白使用 0.45 μ m 膜。