中科瑞泰（北京）生物科技有限公司
Tel: 400-699-0631
http:// www.real-times.com.cn
E-mail: real-times@vip.163.com

蓝色预染超低分子量蛋白质 Marker（3.3-31 kD）

Blue Ultra Low Molecular Weight Protein Marker (3.3-31 kD)

Ver.760579-2.0

货号	名称	规格
RTD6152	蓝色预染超低分子量蛋白质 Marker（3.3-31 kD）	20 次（200 μl）

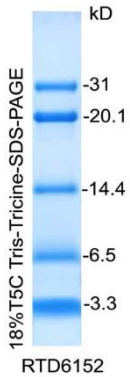
● **贮存、运输及效期：**

-20℃贮存；湿冰运输；有效期 12 个月。

● **产品简介：**

本产品包含预染的 3 种多肽和 2 种低分子量蛋白质组成，分子量大小范围为~3. 3，~6.5，~14.4，~20.1，~31 kD。可以用于直接观察蛋白质电泳状况以及清晰地判断 Western Blot 的转膜效果。经 Tricine-甘油 SDS-PAGE 凝胶电泳时以及转移到 PVDF 或 NC 膜上可看到清晰的 5 条蓝色的蛋白条带。以每次上样 10 μl 计算，该产品可以使用 20 次。

技术规格	
条带数量	5 条
浓度	0.2-0.4 μg/μl
上样前处理	溶化混匀后使用，不要加热
推荐凝胶体系	16.5%或 18%Tris-Tricine-SDS-PAGE
推荐上样体积	~10 μl（1mm 厚度 10 齿梳子）
推荐染色方法	为预染 Marker，电泳过程中可见条带
是否适用于非变性电泳	为变性 Marker，不适用于非变性电泳



● **使用说明：**

第一次收到该产品，常温融化后，彻底混匀，离心快甩将溶液完全收集到管底。本产品为即用型，溶化后既能使用，不能 95℃加热处理。

一. 制胶：

先配制分离胶，聚合后再配制夹层胶，最后配制浓缩胶，3 种胶的制胶体积比约为 4.5:1.5:1.5（注：表一中夹层胶和浓缩胶配制体积是过量的，制胶时不要全部加入）。

1.1 配制分离胶：

1.1.1 按照表一将不同体积的组份加入到小烧杯中混合。

1.1.2 加入 10%APS 和 TEMED，立即混匀。

1.1.3 在玻璃板中灌入分离胶溶液，然后轻轻覆盖一层 1-3 cm 的无水乙醇，使凝胶表面保持平整。

1.1.4 静置 10-20 分钟，待分离胶和乙醇层之间出现一个清晰的界面表示凝胶已聚合。

注：凝胶的聚合时间与环境温度有关。夏天温度较高时，聚合较快；冬天气温低时，聚合时间会

注：本制品仅供科研用。请勿用于人体及动物的医疗、临床诊断或作为食品、化妆品、家庭用品的添加剂等用途。
中科瑞泰(北京)生物科技有限公司 电话:400-699-0631 E-mail:real-times@vip.163.com http://www.real-times.com.cn

延长。分离胶 37℃约 10 分钟，25℃约 15 分钟，18℃ 约 20 分钟可以聚合。

1.2 配制夹层胶：

1.2.1 去除覆盖在分离胶上的醇，用滤纸将残留的醇吸去。

1.2.2 按照表一将不同体积的组份加入到小烧杯中混合；加入 10%APS 和 TEMED，立即混匀。

1.2.3 在玻璃板中灌入适量夹层胶溶液，然后在溶液上轻轻覆盖一层 1-3 cm 的无水乙醇，使凝胶表面保持平整。注：此溶液为过量，请勿全部注入。

1.2.4 静置 20-30 分钟，待夹层胶和乙醇层之间出现一个清晰的界面表示凝胶已聚合。
注：凝胶的聚合时间与环境温度有关。夏天温度较高时，聚合较快；冬天气温低时，聚合时间会延长。夹层胶 37℃ 20 分钟，25℃ 25 分钟，18℃ 约 30 分钟可以聚合。

1.3 配制浓缩胶

1.3.1 去除覆盖在夹层胶上的乙醇，用滤纸将残留的醇吸去。

1.3.2 按照表一将不同体积的组份加入到小烧杯中混合；加入 10%APS 和 TEMED，立即混匀。

1.3.3 将梳子插入凝胶内，避免产生气泡。

1.3.4 静置 20-40 分钟装待凝胶聚合。注：凝胶的聚合时间与环境温度有关。夏天温度较高时，聚合较快；冬天气温低时，聚合时间会延长。浓缩胶 37℃ 20 分钟，25℃ 30 分钟，18℃ 40 分钟可以聚合。

表一 （一块 1 mm 厚度小板胶用量）

	分离胶	夹层胶	浓缩胶
	16.5%T6%C/4.5 ml	10%T3%C/2 ml	5%T3%C/2 ml
49.5%T 3%C	/	0.4 ml	0.2 ml
49.5%T 6%C	1.5 ml	/	/
4×凝胶缓冲液	1.125 ml	0.5 ml	0.5 ml
50%甘油（v/v）	0.9 ml	-	-
ddH_2O	0.95 ml	1.1 ml	1.3 ml
10%APS	~45 μl	~20 μl	~20 μl
TEMED	~4.5 μl	~2 μl	~2 μl

注：如非必须，不要使用 1.5 mm 厚度的凝胶，这样会减少电泳后染色和脱色的时间。

二. 电泳：

2.1 电泳缓冲液配制：
电泳前，将 10×阳极缓冲液（Cat No:AB080）和 10×阴极缓冲液（Cat No:CB010）用蒸馏水稀释成 1×缓冲液备用。

2.2 样品处理：
待上样的检测样品与 2×Tricine 上样缓冲液(Cat:TP050)等体积混合，95℃处理 5 分钟后上样。蛋白 Marker 一般已经含有上样缓冲液，预染 Marker 不能加热处理，混匀后直接上样，非预染 Marker 一般需要 95℃处理 5 min 后上样。

2.3 电泳：
将电泳槽的外槽加入 1×阳极缓冲液，内槽加入 1×阴极缓冲液，轻柔拔出梳子，将 Marker 或蛋白样品加入点样孔，稳压电泳（电泳条件参考下表）

浓缩胶	**恒压 30 V**	**35-45 min**
夹层胶	**恒压 80 V**	**30-40 min**
分离胶	**恒压 120 V**	**80-100 min**
待指示前沿到达分离胶下沿时,即可停止电泳，电泳时间总计 2-4 小时		

注：本制品仅供科研用。请勿用于人体及动物的医疗、临床诊断或作为食品、化妆品、家庭用品的添加剂等用途。
中科瑞泰(北京)生物科技有限公司 电话:400-699-0631 E-mail:real-times@vip.163.com http://www.real-times.com.cn
Real Times 400-699-0631

三. 凝胶检测：

注：多肽染色可以用配方 7 和 8 进行染色和观察。如果使用该配方进行染色时效果不好或考虑其毒性，请选择 FastBlue 蛋白染色液（Cat：RTD6202），该产品能在 60 分钟之内完成蛋白的染色，不至于小肽在染色和脱色中从凝胶中脱离，是常规染色液的理想替代品。

3.1 染色（以 FastBlue 蛋白染色液染色为例）：

3.1.1 将凝胶放入塑料容器中,用适量蒸馏水漂洗，去除胶表面的 SDS，残余 SDS 会导致染色液出现沉淀。

3.1.2 弃蒸馏水，加入适量染色液（以刚刚覆盖过胶面为适),摇床上常温摇动，根据下表确定染色时间。

待检测蛋白量	染色时间
＞1 μg	~5 分钟
100 ng-1 μg	~10 分钟
10 ng-100 ng	~60 分钟

3.1.3 摇床上摇动至所有条带清晰可见。

3. 1.4 蒸馏水摇动漂洗脱色 1-2 次，每次 5-10 分钟，至凝胶背景干净。

3. 1.5 收集用过的染色液，可以重复使用 2-3 次。

3.2 转膜：多肽电泳后转膜选择孔径 0.22 μm PVDF 膜（用前用甲醇处理润湿）或 0.22 μm NC 膜。

3.2.1 半干转：使用伯乐 Trans-Blot Turbo 半干转机器请选择配套的 5×RealBlot 快速半干转转膜缓冲液（货号：RT5030），推荐转膜条件:一板小型凝胶(8×10 cm)恒流,1.3 A,10-15 min。

3.2.1 湿转：湿转转膜缓冲液(25 mM Tris,192 mM Glycine, 0.01%SDS，20% Methanol,pH~8.3)，可以选择 10×Tris-甘氨酸转膜缓冲液（货号：TB1040）。推荐转膜条件：恒流 200 mA 40-60 min。

四.小分子蛋白质 SDS-PAGE 电泳试剂配制：

1. 49.5%T3%C PAA(Cat:PS080) 丙稀酰胺 48 g 甲叉双丙稀酰胺 1.5 g 用超纯水溶解后定容至 100 ml，过滤使用。 贮存：4℃	2. 49.5%T6%C PAA（Cat:PI080） 丙稀酰胺 46.5 g 甲叉双丙稀酰胺 3 g 用超纯水溶解后定容至 100 ml，过滤使用。 贮存：4℃	3. 4×凝胶缓冲液(Cat:GB010） [4 M Tris; 0.4% SDS; pH8.45] Tris 碱 48.4 g；超纯水 80 ml；0.4 g SDS 用 HCl 调 pH 值至 8.45 25℃. 用超纯水定容至 100 ml；贮存：4℃
4. 10×阳极缓冲液（Cat:AB080） [2 M Tris pH8.9] Tris 碱 121.1 g；超纯水 400 ml 用 HCl 调 pH 值至 8.9；用超纯水定容至 500 ml；贮存：4℃ 注：使用前稀释成 1×阳极缓冲液使用。	5. 10×阴极缓冲液（Cat:CB010） [1 M Tris;1 M Tricine;1% SDS;~pH 8.3] Tris 碱 121.14 g；Tricine 179.2 g；SDS 10 g；用水溶解，定容至 1000 ml(不用调 pH)。贮存：4℃ 注：使用前稀释成 1×阴极缓冲液使用	6. 2×Tricine 多肽上样缓冲液(变性,还原)(Cat:TP050) 2 ml 1M Tris-Cl pH6.8；5 g 甘油；0.2 g SDS；0.2 g DTT；4 mg 考马斯亮蓝 G-250；用超纯水定容至 10 ml。 贮存：-20℃
7. 染色液 冰醋酸 100 ml；考马斯亮蓝 G-250 0.25 g；水定容到 1 升；贮存：常温	8. 脱色液 冰醋酸 100 ml；水 900 ml 贮存：常温	9. 50%甘油 甘油 50 ml（63 克）；超纯水定容到 100 ml；贮存：常温

Real-Times 400-699-0631

注：本制品仅供科研用。请勿用于人体及动物的医疗、临床诊断或作为食品、化妆品、家庭用品的添加剂等用途。
中科瑞泰(北京)生物科技有限公司 电话:400-699-0631 E-mail:real-times@vip.163.com http://www.real-times.com.cn