

SDS-PAGE 予染超低分子量(3.3-31kDa)标准蛋白质说明书

SDS-PAGE 予染小分子量标准蛋白质用来测定 SDS-PAGE上多肽和小蛋白的分子量，该产品分子量为范围3.3-31kDa。

规格：本品含蓝色予染的蛋白质和多肽各 40ug，经 Tricine-甘油 SDS-PAGE 电泳时可看到清晰的条带，

组成及电泳图：



储藏：-20℃

使用次数：40 次

使用方法：使用前置室温融化后 5μl 上样即可。

聚丙烯酰胺凝胶制备：

1) 49.5%T 3%C

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

2) 49.5%T 6%C

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

3) 凝胶缓冲液

Tris • HCl/SDS pH 8.45
Tris Base 182 克
ddH₂O 300 ml
用 HCl 调 pH 8.45，补足 ddH₂O 到 500 ml
加 SDS 1.5 克

4) 阳极缓冲液 10×

Tris Base 121.1 克
ddH₂O 400 ml
用 HCl 调 pH8.9，补足 ddH₂O 到 500 ml

5) 阴极缓冲液

Tris Base 12.11 克
Tricine 17.92 克
SDS 1 克
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: 60 V 30min

120 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。

参考文献：Schagger H, von Jagow G.. Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. *Anal Biochem.* 1987 Nov 1; 166(2): 368-79