

Prestained Protein Ladder (10-180kDa)

预染标准蛋白 Marker

Cat. No. 目录编码	AB0109
Pack Size 包装规格	250 μ l, 250 μ l*2
Appearance 产品性状	Blue-black Liquid
Storage Buffer	62.5 mM Tris-H ₃ PO ₄ , pH7.5, 5mM EDTA, 2 % (W/V) SDS, 33 % (W/V) Glycerol
存储液	0.02 % (V/V) proclin300
Quality Control 质控	Tested in SDS-PAGE and Western Blotting
Shelf life 效期	Stable at -20°C for 24 months ; 4°C for 3 months; 25°C for 4 weeks

Description 产品描述

Prestained Protein Ladder is a ready-to-use formulation which does not require boiling, contains 10 prestained proteins covering a wide range of molecular weights (10~180 kDa) and includes a orange reference band at 70 kDa and a green reference band at 10 kDa. The protein ladder is designed for monitoring protein separation during SDS-PAGE, verification of Western blot transfer (PVDF, nylon or nitrocellulose membranes) and for the approximate sizing of proteins. Supplied as a ready-to use formulation in gel loading buffer, the ladder requires no heating, dilution or addition of reducing agents.

Lot-to-lot variation of apparent molecular weight of prestained proteins is less than 3%.

Applications 应用领域 :

- 1) Monitoring of protein separation during SDS-PAGE.
- 2) Verifying Western transfer efficiency.
- 3) Approximate sizing of proteins on SDS-PAGE gels and Western blots.
- 4) Locating a protein of interest for excision from an unstained preparative gel.

Important Information 重要信息 :

- Prestained proteins can have different mobilities in various SDS-PAGE-buffer systems. However, they are suitable for approximate molecular weight determination when calibrated against unstained standards in the same system. See the table provided for migration patterns in different electrophoresis conditions.
- In low-percentage gels (< 10 %), the low-molecular weight proteins in the ladder may migrate with the dye front.
- Prestained Protein Ladder can be used in Western blotting with all common membranes: PVDF, nylon and nitrocellulose.
- Longer transfer times or higher transfer voltages may be required for Western blotting of large (>100 kDa) proteins.
- The proteins in the ladder have his-tag, when use anti-histag western blotting.

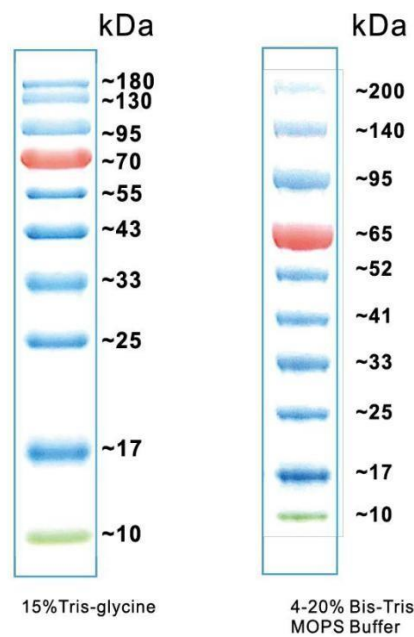
For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

Preparation 使用说明 :

1. Thaw the ladder at room temperature for a few minutes to dissolve precipitated solids. Do not boil!
2. Mix gently, but thoroughly, to ensure the solution is homogeneous.
3. Load the following volumes of the ladder on an SDS-polyacrylamide gel:
- 5 μ L per well for mini gel, -10 μ L per well for large gel.
4. Use the same volumes for Western blotting.
5. The loading volumes listed above are recommended for gels with a thickness of 0.75-1.0 mm. The loading volume should be doubled for 1.5 mm thick gels.

Prestained Protein Ladder :

The apparent molecular weight of each protein (kDa) has been determined by calibration against an unstained protein ladder in each electrophoresis.



Note:

The apparent molecular weight of each protein (kDa) has been determined by calibration against an unstained protein ladder in each electrophoresis condition.
**supplement data should be considered for more accurate adjustment.

Gel type	Tris-Glycine						Bis-Tris					Bis-Tris		
Gel concentration	6%	8%	10%	12.5%	15%	B4-20%	G4-12%	G4-12%	G8-16%	G4-20%	G10%	T4-12%	T4-12%	
Running buffer	Tris-Glycine						MES	MOPS					MES	MOPS
Apparent Molecular Weights, kDa														
% length of gel 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100			180	130	95	52	180	140	200	140	200	200	140	
	180	130	95	52	52	180	140	200	140	200	140	200	140	
			130	95	52	130	95	140	95	95	140	95	140	
			73	41	41	180	65	95	65	65	95	65	95	
			52	32	32	130	52	65	52	52	65	52	65	
			71	25	25	95	40	65	40	40	65	40	65	
			41	17	17	52	31	52	40	31	52	40	52	
			25	10	10	40	25	40	31	25	40	25	40	
			52	17	17	33	17	40	25	17	31	17	25	
			41	10	10	25	10	31	25	17	31	17	25	
		32	10	10	17	10	25	17	10	25	17	10		
			10	10	10	10	17	10	10	17	10	17		
			10	10	10	10	10	10	10	10	10	10		

实验中常见的问题及建议

问题	建议
我使用了你们的一种预染蛋白质标准品进行转印，发现在转印过程中条带在膜上褪色了。为什么会这样？	褪色最可能是由于封闭/洗涤液中的洗涤剂将一些蛋白质从膜上洗脱造成的。染料本身不会从蛋白质上洗脱，因为它们是共价结合的。我们已经发现较小孔径的膜可以在封闭和洗涤过程中更好地保留蛋白质，因此，为了获得绝佳的分辨率和蛋白质保留率，推荐使用 0.2 μm 代替 0.45 μm 的膜。转印后，可以用铅笔在膜上圈出预染条带，从而在封闭和处理后仍可辨认条带位置。
我的蛋白质标准中的几个条带在凝胶上缺失。你们能帮我排查问题吗？	<ul style="list-style-type: none"> • 检查使用的凝胶类型/凝胶百分比。可能会由于凝胶类型和/或百分比的不同而不能看到所有条带。例如，蛋白质标准品的最小条带可能不能在非常低百分比的凝胶上分辨，而较高分子量条带可能不能在高百分比凝胶上分辨。 • 检查蛋白质分子量标准品的有效日期。由于蛋白质降解，过期批次可能导致条带褪色或缺失。 • 检查蛋白质分子量标准品的储存条件。不适当的储存条件会损害标准品中蛋白质的稳定性。 • 确保蛋白质分子量标准品在上样到凝胶上之前未加热/煮沸。我们的蛋白质分子量标准品可直接上样，我们不建议将其加热/煮沸，因为这可能会导致标准品中的蛋白质降解。
我使用了你们的一种蛋白质标准品，并在泳道中看到了一些额外的条带。可以提供一些建议吗？	<ul style="list-style-type: none"> • 上样时，请注意确保相邻样品泳道没有交叉污染。 • 确保每个泳道上标准品的量都是正确的。蛋白质上样过多会导致产生额外的条带，这个问题在使用银染凝胶时尤为突出。 • 标准品储存不当或反复冻融会导致蛋白质降解。

我使用了你们的一种蛋白质标准品进行转印，发现一些小分子蛋白质条带穿过了膜。我该如何解决这个问题？	• 降低电压、电流或缩短转印时间
	• 确保转膜缓冲液的甲醇浓度合适；可使用浓度为 10–20% 的甲醇，从而去除 SDS-蛋白质复合物中的 SDS，并促进蛋白质与膜的结合。
	• 确保转膜缓冲液的 SDS 浓度合适（若加入了 SDS），SDS 浓度不要超过 0.02–0.04%。过多的 SDS 会阻碍蛋白质与膜的结合。
	• 检查膜的孔径和靶标蛋白质的大小。小于 10kDa 的蛋白质很容易穿过 0.45 μm 孔径的膜。如果您的目标蛋白质小于 10 kDa，那么最好使用 0.2 μm 孔径的膜。

我在 Tris-甘氨酸凝胶上使用了一种预染标准品，发现蛋白质的分子量与在 NuPAGE Bis-Tris 凝胶上的分子量不同。这是什么原因？	预染标准品具有与每种蛋白质共价结合的染料，这将导致标准品在不同的缓冲系统（即不同的凝胶）中迁移率不同。因此，使用预染标准品进行分子量估算将仅得出蛋白质的表现分子量。预染标准品可用于分子量估算、确认凝胶迁移和估算转膜效率，但对于需要精确估算分子量的应用，应使用非预染标准品。
--	--

我使用了你们的一种蛋白质标准品进行转印，发现一些高分子蛋白质条带转印到膜上的效果很差。可以提供一些提示吗？	• 增加电压、电流或转印时间
	• 凝胶和 SDS-蛋白质复合物中的 SDS 会促进蛋白质从凝胶中洗脱，但抑制蛋白质与膜的结合。这种抑制作用在硝化纤维素膜上的强度大于 PVDF 膜。对于难以从凝胶中洗脱的蛋白质，如大分子量蛋白质，可在转膜缓冲液中加入少量 SDS 以改善转印效果。我们建议在组装三明治前将凝胶置于含 0.02–0.04% SDS 的 2x 转膜缓冲液（无甲醇）中预平衡 10 分钟，然后使用含 10% 甲醇和 0.01% SDS 的 1X 转膜缓冲液进行转印。
	• 甲醇可去除 SDS-蛋白质复合物中的 SDS，促进蛋白质与膜的结合，但对凝胶本身有一些不良影响，会降低转印效率。甲醇可能导致孔径减小、某些蛋白质发 Th 沉淀以及一些碱性蛋白质带正电荷或变为中性。应确保转膜缓冲液的甲醇浓度不高于 10–20%，并使用高质量的分析级甲醇。

我使用了你们的一种蛋白质分子量标准品，它的条带看起来不太明显，很模糊。我该怎么操作？	• 确保每个泳道上标准品的量都是正确的。蛋白质上样过多会导致模糊，这个问题在使用银染凝胶时尤为突出。
	• 条带在低百分比凝胶中不能很好地分辨。尝试使用更高百分比的凝胶。
	• 如果在转膜/检测后条带看起来不明显和模糊，可能是由于抗体浓度过高。遵循制造商建议的稀释度或通过斑点印迹确定最适抗体浓度。

我使用了你们的一种预染蛋白质分子量标准品进行转印，但是膜上的转印效果较差。可能出了什么问题？	- 凝胶上的分子量标准品的量不足：将适当体积的分子量标准品上样到凝胶上。以下是我们的建议：
	• 小型凝胶：每孔 5 μL （厚度 0.75-1.0 mm）或每孔 10 μL （厚度 1.5 mm）
	• 大凝胶：每孔 10 μL （厚度 0.75-1.0 mm）或每孔 20 μL （厚度 1.5 mm）
	- 转印不完全或不理想：优化转印条件

我使用了你们的一种预染蛋白质分子量标准品，这些条带没有很好地分离。可能是什么原因造成的？	以下是一些可能的原因和解决方案：
	- 样品被煮沸：丢弃煮沸的分装样品。 - 使用的分子量标准品体积过大：加入较少的体积或使用前用蛋白质上样缓冲液稀释分子量标准品。