

## Prestained Protein Ladder (10-180 kDa, Four Colors)

| 产品货号   | 产品名称                                                | 产品规格                    |
|--------|-----------------------------------------------------|-------------------------|
| S81008 | Prestained Protein Ladder (10-180 kDa, Four Colors) | 25 $\mu$ L              |
|        |                                                     | 2 $\times$ 250 $\mu$ L  |
|        |                                                     | 10 $\times$ 250 $\mu$ L |
| 储运条件   | -20 $^{\circ}$ C 保存，避免反复冻融；冰袋运输。                    |                         |

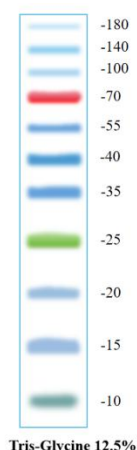
### 产品参数

**缓冲液成分:** 62.5 mM Tris-HCl (pH7.5, 25 $^{\circ}$ C), 1 mM EDTA, 2%(w/v) SDS, 10 mM DTT, 1 mM NaN<sub>3</sub>, 33%(v/v) glycerol。

**条带组成:** 10 KDa, 15 KDa, 20 KDa, 25 KDa, 35 K Da, 40 KDa, 55 KDa, 70 KDa, 100 KDa, 140 KDa, 180 KDa。

### 产品介绍

Prestained Protein Ladder (10-180 kDa, Four Colors)是一款专为蛋白电泳实验设计的分子量标准品。它由四种不同颜色标记的蛋白质组成，共 11 个条带，其中 10 kDa 条带为墨绿色，25 kDa 条带为绿色，70 kDa 条带为红色，其余条带为蓝色（在 12.5% 凝胶中的电泳结果如下图），覆盖 10 - 180 kDa 分子量范围，分布均匀，每种蛋白均经过高度纯化并进行预染，可在 SDS - PAGE 凝胶电泳中形成清晰条带，精准指示目标蛋白分子量，同时实时监测电泳进程，为实验结果提供直观参照。



### 应用范围

SDS - PAGE 凝胶电泳 蛋白质印迹（Western Blot）

## 产品特点

1. **多色标记**：4 种鲜明颜色区分，条带锐利，便于观察，无需染色步骤，节省时间；
2. **宽分子量范围**：分子量精准，分布合理均匀，适用性广；
3. **高稳定性**：颜色牢固，存放稳定，实验结果重复性好；
4. **兼容性好**：兼容常见电泳缓冲液、凝胶配方及转膜条件。

## 注意事项

1. 请勿对产品进行加热煮沸。
2. 使用前请充分混合：轻轻旋转容器以均匀分布蛋白质，防止用力振荡造成不均匀。
3. 防止多次冻融：建议根据使用需求分装，并标注清楚，存放于  $-20^{\circ}\text{C}$  条件下，以便长期使用。
4. 预染蛋白质标准品仅提供分子量的大致估计，不同批次的差异大约为 5%。
5. 在低浓度凝胶中，低分子量条带可能会与凝胶前沿混合，导致无法清晰分离。
6. 注意：预染蛋白质在 SDS-PAGE 凝胶中的迁移率可能因不同缓冲液而异。若出现偏差，请使用未预染的蛋白质标准进行校正。
7. 本产品不包含带有 His 标签的蛋白质。
8. 预混产品已包含 SDS，因此不适用于未变性的聚丙烯酰胺凝胶电泳。
9. 本产品仅限于科研用途并且不得存放于普通住宅内。
10. 为了您的安全和健康，请遵循您所在常规实验室安全规定。

## 操作步骤（仅供参考）

1. 取  $-20^{\circ}\text{C}$  保存的 Ladder，室温融化（切勿加热）。 $4^{\circ}\text{C}$  保存的 Ladder 可直接进行混匀。
2. 轻轻涡旋混匀，确保蛋白均匀分散，避免剧烈震荡。
3. 按照上样孔规格取用相应体积 Ladder 点样。0.75-1.0 mm 凝胶，上样  $5\ \mu\text{l}/\text{孔}$ ；1.5 mm 凝胶，上样  $10\ \mu\text{l}/\text{孔}$ 。（条件允许时，建议初次实验进行预实验确定合适的上样量。）
4. 使用结束后，立即密封，放置  $-20^{\circ}\text{C}$  或  $4^{\circ}\text{C}$  保存。

## FAQ

1. 问：条带分离程度不好，该如何解决？

答：条带分离问题可以由以下几个方向分析问题并尝试调整。

- （1）凝胶问题：浓度不当，大分子蛋白适用低浓度胶，小分子适用高浓度胶，否则条带难分离；制备时若不均匀、有气泡或未充分聚合，会干扰蛋白迁移路径；
- （2）电泳条件问题：电压过高，蛋白迁移过快尚未来得及分离；时间过短，蛋白未迁移到合适位置，都无法实现良好分离；

(3) 样品问题：上样量太大，条带拥挤拖尾；处理不当，蛋白未充分变性或聚集，影响迁移，导致条带分不开；

(4) 缓冲液问题：pH 异常改变蛋白带电和迁移率；离子强度异常干扰蛋白迁移，使条带难以分离。

2. 问：在跑胶时，蛋白条带清晰，颜色明亮，转膜后条带变淡，且越清洗条带越淡什么原因？

答：(1) 转膜效率低：转膜过程中，蛋白没有充分从凝胶转移到膜上，可能是转膜时间不足、电流/电压不合适，或是转膜缓冲液问题，导致大量蛋白留在凝胶，膜上蛋白量少，条带变淡。可以根据蛋白分子量大小调整转膜时间、电流或电压，选择合适的转膜缓冲液，有条件可进行预实验确定最佳转膜参数；

(2) 膜的结合能力差：选用的膜与蛋白结合不牢固，转膜后部分蛋白容易脱落，在后续抗体剥离清洗时加剧蛋白丢失，条带逐渐变淡。可以根据蛋白特性挑选结合能力强的膜，如 PVDF 膜适合大多数蛋白，NC 膜对小分子蛋白结合较好，确保膜在使用前正确预处理；

(3) 抗体剥离液过度作用：剥离液成分过强，不仅去除抗体，还破坏了蛋白与膜的结合，清洗次数越多，蛋白损失越大，条带越淡。考虑降低剥离液强度，或缩短剥离时间和清洗次数，使用温和的剥离缓冲液配方，也可在剥离后用封闭液孵育，增强蛋白与膜的结合；

(4) 操作不够规范：转膜“三明治”结构不紧密，导致转膜操作效果未达预期。建议实验前仔细检查实验器材，或更换新夹子，各操作步骤规范操作。

3. 问：ECL 显影中有时会将个别蛋白 Ladder 条带显影出来是什么原因？

答：(1) 抗体交叉反应：使用的一抗或二抗可能与蛋白 Ladder 中的某些成分发生非特异性结合，导致 Ladder 条带被显影。这种情况需要进行抗体优化，更换特异性更高的抗体，或对现有的抗体进行适当稀释，降低非特异性结合的可能性；

(2) Ladder 污染：蛋白 Ladder 在制备、储存或使用过程中受到了与检测蛋白相关的物质污染，从而在显影时出现条带。需要注意检查蛋白 Ladder 的来源和质量，使用新的、未受污染的 Ladder。同时，在操作过程中注意避免 Ladder 被污染；

(3) 曝光时间过长：ECL 显影时曝光时间设置过长，使得原本微弱的非特异性信号也被显现出来，包括蛋白 Ladder 条带。通过预实验确定合适的曝光时间，避免过度曝光。可以采用不同曝光时间梯度进行尝试，找到能清晰显示目标条带且无 Ladder 条带显影的最佳时间；

(4) 显影液问题：显影液可能过期、变质或配制不当，导致其敏感性异常，使非目标信号也能被检测到。使用新鲜配制的、质量可靠的显影液。严格按照说明书的要求进行配制和保存，确保显影液的性能正常。

4. 问：电泳结果中没有目标蛋白条带有哪些原因？

答：(1) 蛋白降解：样品处理过程中，蛋白可能被内源性蛋白酶水解，比如未在裂解液中添加蛋白酶抑制剂，或者样品在冰上放置时间过长、反复冻融等，都会导致目的蛋白降解，使条带消失；

- (2) 上样失误：上样时可能由于操作不当，如加样枪不准确、样品挂壁等，导致实际进入凝胶的样品量极少甚至没有，从而看不到目的蛋白条带；
- (3) 凝胶问题：凝胶配制过程中，如果凝胶聚合不完全，目的蛋白在电泳过程中可能无法形成稳定的迁移路径，导致条带无法正常显现；
- (4) 电泳参数异常：电压过高或电泳时间过长，可能使目的蛋白跑出凝胶，离开检测范围，最终在结果中看不到条带；
- (5) 可能是体系中过多的 HRP；封闭不够；封闭液不合适；洗膜不够；过度曝光；抗原或抗体浓度过高。可进一步稀释 HRP 结合物；优化封闭条件。

5. 问：蛋白条带模糊有哪些原因？

- 答：
- (1) 蛋白降解：样品中的蛋白酶未被有效抑制，或储存条件不当，使蛋白发生降解，产生大小不一的片段，导致条带模糊；
  - (2) 样品浓度不均：上样前样品未充分混匀，局部浓度过高或过低，电泳时蛋白迁移不一致，条带出现模糊；
  - (3) 凝胶聚合不均匀：凝胶制备时试剂混合不充分、温度或 pH 不合适，导致凝胶孔径大小不一，蛋白迁移路径不规则，条带模糊；
  - (4) 凝胶有气泡：凝胶中存在气泡，会阻碍蛋白正常迁移，使条带形状不规则、边缘模糊；
  - (5) 电压不稳定：电泳过程中电压波动，蛋白迁移速度时快时慢，无法形成清晰条带；
  - (6) 电泳温度过高：较高的温度会使凝胶中的分子运动加剧，影响蛋白的迁移，还可能导致凝胶变形，使条带模糊。