

---

# 蛋白 Marker 选购指导书

---

版本：V1.0  
发布时间：2022 年 12 月

## 目录

概述 .....	2
预染蛋白 Marker .....	2
TureColor 预染蛋白 Marker 选购指南 .....	3
RealBand 预染蛋白 Marker 选购指南 .....	4
预染蛋白 Marker 使用说明 .....	4
预染蛋白 Marker 注意事项 .....	5
非预染蛋白 Marker .....	5
非预染蛋白 Marker 选购指南 .....	6
非预染蛋白 Marker 使用说明 .....	6
非预染蛋白 Marker 注意事项 .....	7
常见问题（FAQ） .....	7

## 概述

蛋白 Marker 又称蛋白电泳标准品或蛋白分子量标准品, 为一组不同分子量纯化蛋白的混合物。可用于蛋白凝胶电泳实验和免疫印迹实验中用于指示目的蛋白的分子量。常用蛋白 Marker 可分为**预染蛋白 Marker**和**非预染蛋白 Marker**, 预染 Marker 是纯化好的几种蛋白, 通过与染料共价偶联, 可以在蛋白电泳的过程中或转膜时直接进行观察。而非预染 Marker 由于未偶联染料, 故在电泳过程中无法直接观察, 需要在电泳结束后经过电泳染色才能显现。

生工生物拥有全面而多样的蛋白 Marker 产品线, 预染蛋白 Marker 拥有生工 **TureColor** 和 **BBI RealBand** 两大系列。按条带范围和检测分子量大小, 又可分为**低分子量**、**标准范围**、**宽范围**和**高分子量**四种。检测低分子量的小蛋白, 可使用低分子量的蛋白 Marker, 检测高分子量的大蛋白, 可使用高分子量的蛋白 Marker, 而大多数的情况下, 对于分子量适中, 蛋白条带分布均匀的情况下, 选择标准范围和宽范围即可满足您的实验需求。

## 预染蛋白 Marker

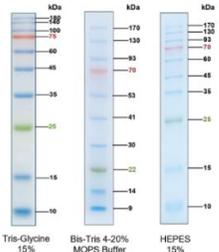
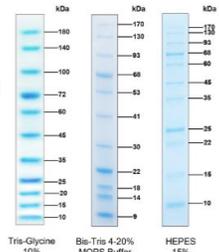
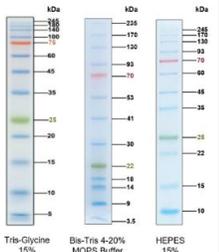
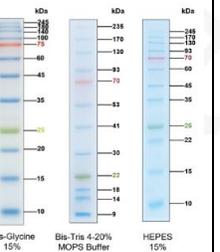
除了按分子量范围来分类外, 预染蛋白 Marker 按蛋白条带的颜色可分为单色、双色和多色(3色)三种。通常会把其中几条重点条带的颜色加深或使用不同颜色的染料来进行突出。**TureColor** 系列预染 Marker 具备优秀的性价比, 在 **Tris-Glycine**、**Bis-Tris** 和 **HEPES** 电泳缓冲液体系下, 均可得到锐利、清晰的蛋白条带; 而 **RealBand** 系列除了具备优秀的实验效果外, 蛋白 Marker 的稳定性更好, 在 **4°C** 或常温条件下较长时间仍能保证其质量和效果不会有明显下降。



TureColor 预染蛋白 Marker 选购指南

		#C610011	#C510010	#C520010
条带图				
类型		标准范围	标准范围	宽范围
颜色		橙色、蓝色	橙色、蓝黄混色、蓝色	橙色、蓝色
分子量范围		15~130 kDa (Tris-Glycine)	10~180 kDa (Tris-Glycine)	10~250 kDa (Tris-Glycine)
条带分子量 (kDa)	Tris-Gly	15,20,25,35,50,70,100,130	10,17,25,33,40,53,70,95,130,180	10,15,20,25,35,40,50,70,100,150,250
	Bis-Tris	14,20,26,35,45,65,95,140	10,16,25,31,38,50,65,95,140,200	10,14,21,24,35,40,50,65,95,140,235
	HEPES	15,20,25,32,48,65,91,120	11,16,25,30,37,49,65,91,130,180	13,16,22,26,35,40,48,65,100,150,245
条带数量		8	10	11
浓度		0.2~0.5 µg/µl	0.3~0.6 µg/µl	0.2~0.4 µg/µl
推荐凝胶体系		Tris-Glycine; Bis-Tris ; HEPES	Tris-Glycine; Bis-Tris ; HEPES	Tris-Glycine; Bis-Tris ; HEPES
推荐上样体积		3~5 µl (mini gel)	3~5 µl (mini gel)	3~5 µl (mini gel)
保存缓冲液		62.5 mM Tris-H3PO4 (pH 7.5), 1 mM EDTA, 10 mM DTT, 2% SDS, 33% Glycerol, 0.1% Proclin 300	20 mM Tris-H3PO4 (pH 7.5), 5mM EDTA, 2% SDS, 2 mM DTT, 3.6 M Urea, 15% Glycerol, 0.1% Proclin 300	62.5 mM Tris-HCl (pH 7.5), 1 mM EDTA, 10 mM DTT, 2% SDS, 33% Glycerol, 0.1% Proclin300
保存条件		4°C, <=2 个月; -20°C, <=24 个月	4°C, <=2 个月; -20°C, <=24 个月	4°C, <=2 个月; -20°C, <=24 个月

## RealBand 预染蛋白 Marker 选购指南

		#C610013	#C610015	#C610016	#C620014
条带图					
类型		标准范围	标准范围	宽范围	宽范围
颜色		绿色、红色和蓝色	蓝色	绿色、红色和蓝色	绿色、红色和蓝色
分子量范围		10~180 kDa (Tris-Glycine)	10~180 kDa (Tris-Glycine)	3.5~235 kDa (Tris-Glycine)	10~245 kDa (Tris-Glycine)
条带分子量 (kDa)	Tris-Gly	10, 15, 25, 35, 45, 60, 75, 100, 140, 180	10, 15, 20, 25, 35, 45, 60, 72, 100, 140, 180	5, 10, 15, 20, 25, 35, 45, 60, 75, 100, 140, 180, 245	10, 15, 20, 25, 35, 45, 60, 75, 100, 140, 180, 245
	Bis-Tris	9, 14, 22, 30, 41, 53, 70, 93, 130, 170	9, 14, 18, 22, 30, 41, 53, 68, 93, 130, 170	3.5, 9, 14, 18, 22, 30, 41, 53, 70, 93, 130, 170, 235	9, 14, 18, 22, 30, 41, 53, 70, 93, 130, 170, 235
	HEPES	10, 15, 25, 35, 45, 60, 70, 93, 130, 170	10, 15, 22, 25, 35, 45, 60, 68, 93, 130, 170	10, 15, 22, 25, 35, 45, 60, 70, 93, 130, 170, 245	10, 15, 22, 25, 35, 45, 60, 70, 93, 130, 170, 245
条带数量		10	11	13	12
浓度		0.1~0.4 µg/µl	0.1~0.5 µg/µl	0.1~0.4 µg/µl	0.1~0.4 µg/µl
推荐凝胶体系		Tris-Glycine; Bis-Tris; HEPES	Tris-Glycine; Bis-Tris; HEPES	Tris-Glycine; Bis-Tris; HEPES	Tris-Glycine; Bis-Tris; HEPES
推荐上样体积		3~5 µl (mini gel)	3~5 µl (mini gel)	3~5 µl (mini gel)	3~5 µl (mini gel)
保存缓冲液		20 mM Tris-H3PO4 (pH 7.5), 2% SDS, 0.2 Mm DTT, 3.6 M Urea, 15% Glycerol	20 mM Tris-H3PO4 (pH 7.5), 2% SDS, 0.2 Mm DTT, 3.6 M Urea, 15% Glycerol	20 mM Tris-H3PO4 (pH 7.5), 2% SDS, 0.2 Mm DTT, 3.6 M Urea, 15% Glycerol	20 mM Tris-H3PO4 (pH 7.5), 2% SDS, 0.2 Mm DTT, 3.6 M Urea, 15% Glycerol
保存条件		4°C, <=3 个月; -20°C, <=24 个月	4°C, <=3 个月; -20°C, <=24 个月	4°C, <=3 个月; -20°C, <=24 个月	4°C, <=3 个月; -20°C, <=24 个月

备注: HEPES 体系不适用于 10 kDa 以下蛋白电泳

### 预染蛋白 Marker 使用说明

以最常用的 mini gel 为例, 每个 PAGE 胶 (1 mm, 11 孔为例) 的上样孔的加样体积约为 3~5 µl。按 5 µl 为标准, 每支 250 µl 的蛋白 Marker 换算成次数约为 50 次。建议通过设定上样量梯度进行预实验, 在上样体积和蛋白条带深度之间寻找最佳平衡点。使用更大的胶板或非标准胶板, 可根据 mini gel 的胶孔尺寸等比例放大或缩小 (并不需要严格遵从), 注意较厚的胶也要对应增加上样体积。

标准使用步骤如下:

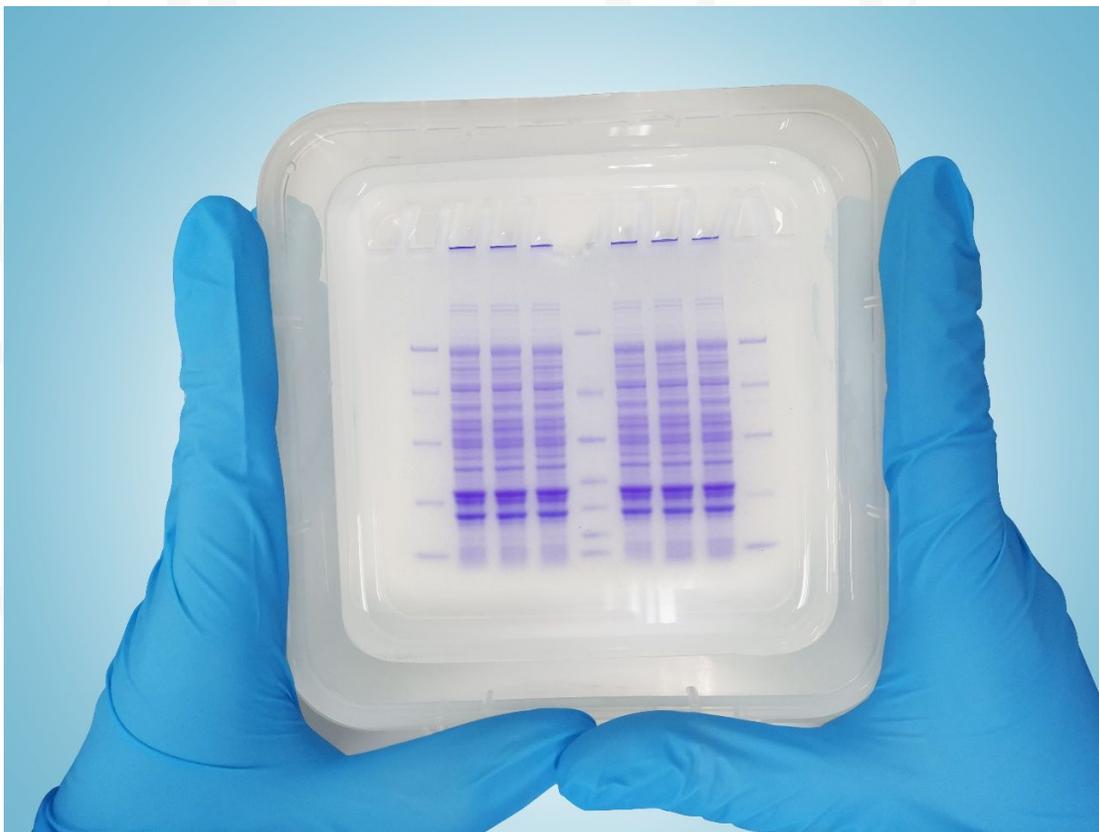
1. 室温下解冻后轻轻混匀或用移液枪缓慢吹打均匀, 无需加热;
2. 取本产品 3~5  $\mu\text{l}$  加入到聚丙烯酰胺凝胶电泳上样孔中进行电泳 (for SDS-PAGE mini gel);
3. 电泳结束后 Marker 条带无需染色即可进行可视化观察。

### 预染蛋白 Marker 注意事项

1. 每种蛋白质的表观分子量 (kDa) 已经根据未预染的蛋白 Marker 校准过, 但蛋白电泳条带的迁移率受到染料、蛋白序列、缓冲体系等诸多因素影响, 因此预染蛋白 Marker 条带体现的表观分子量仅起到参考作用, 可能与真实蛋白分子量具有一定偏差;
2. 该产品仅适用于变性电泳, 不适用于非变性电泳;
3. 推荐使用 15% 的聚丙烯酰胺凝胶电泳 (可购买生工预制胶产品获得更高效、更便捷的体验)。其他浓度并非不适用, 建议进行预实验选用最适合的体系及胶浓度。浓度太低时, 低分子量蛋白迁移速度快于溴酚蓝; 浓度太高时, 高分子量蛋白分离效果不好, 有可能聚集于分离胶的上部;
4. 收到货后建议分装成几等份冷冻保存, 防止污染及反复冻融造成蛋白质降解;

### 非预染蛋白 Marker

与预染蛋白 Marker 所提供的“近似分子量”相比, 非预染蛋白 Marker 能提供相对准确的蛋白分子量参照, 不受缓冲体系变化造成分子量迁移变化的影响, 非预染蛋白 Marker 无法在电泳过程中直接观察到条带, 需要在电泳结束后和蛋白样品一起通过考马斯亮蓝或银盐染色才能被观察到。



## 非预染蛋白 Marker 选购指南

	#C600201	#C600523	#C600525
条带图			
类型	低分子量	标准范围	标准范围
分子量范围	4.1~66 kDa	14.4~97 kDa	14.4~116 kDa
条带分子量 (kDa)	4.1, 6.5, 9.5, 14.4, 20.0, 27.0, 35.0, 45.0, 66.0	14.4, 27.0, 45.0, 66.2, 97.0	14.4, 18.4, 25.0, 35.0, 45.0, 66.2, 116.0
条带数量	9	5	7
浓度	0.1~0.3 µg/µl	0.1~0.3 µg/µl	0.1~0.2 µg/µl
推荐凝胶体系	Tris-Tricine	Tris-Glycine; Bis-Tris ; HEPES	Tris-Glycine; Bis-Tris ; HEPES
推荐上样体积	3~5 µl (mini gel)	5~10 µl (mini gel)	5~10 µl (mini gel)
保存缓冲液	62 mM Tris-HCl (pH 7.0), 1 mM EDTA, 4% Sucrose, 50mM DTT, 2% SDS, 0.005% Bromophenol blue	62 mM Tris-HCl (pH 7.0), 1 mM EDTA, 4% Sucrose, 50 mM DTT, 2% SDS, 0.005% Bromophenol blue	62.5 mM Tris-H3PO4 (pH 7.5), 1 mM EDTA, 50 mM DTT, 2% SDS, 30 mM NaCl, 50% Glycerol 0.01% Bromophenol blue
保存条件	4°C, <=15 天; -20°C, <=24 个月	4°C, <=15 天; -20°C, <=24 个月	4°C, <=15 天; -20°C, <=24 个月

## 非预染蛋白 Marker 使用说明

与预染蛋白 Marker 相比, 非预染蛋白 Marker 在加样前需要加热变性, 电泳结束后需要先对蛋白进行染色, 按照常规染色方法, 先上色再脱色之后再行条带观察。

标准使用步骤如下:

1. 室温下解冻后轻轻混匀或用移液枪缓慢吹打均匀;
2. 从原液中吸取所需的上样量至新的微量离心管中;
3. 95°C~100°C 下加热 5 min, 使蛋白质完全变性;
4. 低速离心 10 Sec 后, 取 3~5 µl (1 mm, 11 孔为例, 可根据不同孔径大小等比例增加或减少上样量) 加入到聚丙烯酰胺凝胶电泳上样孔中进行电泳 (for SDS-PAGE mini gel, C600201 低分子量 for Tricine SDS-PAGE mini gel);
5. 电泳结束后, 可通过考马斯亮蓝 (推荐使用高灵敏快速染色试剂盒 #C510041)、银盐染色或其他蛋白染色方法进行可视化观察。

## 非预染蛋白 Marker 注意事项

1. 每种蛋白质在不同缓冲体系及不同胶浓度下受迁移率及电荷影响位置会有细微偏移;
2. 该产品仅适用于变性电泳, 不适用于非变性电泳;
3. 标准范围: 推荐使用 15% 的聚丙烯酰胺凝胶电泳 (可购买生工预制胶产品获得更高效、更便捷的体验), 其他浓度并非不适用, 建议进行预实验选用最适合的体系及胶浓度。浓度太低时, 低分子量蛋白迁移速度快于溴酚蓝; 浓度太高时, 高分子量蛋白分离效果不好, 有可能聚集于分离胶的上部。  
低分子量: 推荐使用 16.5% 的 Tricine SDS-PAGE 电泳 (可购买生工 Tricine-SDS-PAGE 预混液 #C641100 产品获得更高效、更便捷的体验);
4. 银盐染色比考马斯亮蓝染色敏感 10~100 倍, 建议上样量适当减少;
5. 收到货后建议分装成几等份冷冻保存, 防止污染及反复冻融造成蛋白质降解;
6. 变性后的非预染 Marker 需要保存在 -20°C 并尽快使用完毕;
7. 上样量可根据胶板大小及厚度适当增加或减少上样量。

## 常见问题 (FAQ)

### Q1 非预染蛋白 Marker 跑电泳后条带未得到有效分离, 可能的原因和解决方案有哪些?

- 1) 请确定是否煮样? 煮样时间建议在 95°C~100°C 加热 5~10min, 使蛋白完全变性后再进行上样;
- 2) 蛋白 Marker 条带分与凝胶浓度是否匹配? 蛋白 Marker 最小条带可能无法在低百分比的凝胶上的得到有效分离, 较高的分子量条带可能无法在高百分比凝胶上得到有效分离;
- 3) 检测电泳槽正负极是否正确, 内槽电泳液是否加满? 外槽电泳液是否没过电极线 2 cm 以上位置;
- 4) 电泳时间是否合适? 控制电泳时间, 一般建议溴酚蓝条带跑到距离凝胶 1 cm 处停止电泳, 防止条带跑出凝胶导致丢失;
- 5) 产品本身是否无质量问题? 确认产品是否在有效期范围内并按照存储要求保存, 不合理的保存方式可能造成部分或全部蛋白的降解丢失。

### Q2 预染蛋白 Marker 跑电泳后条带未得到有效分离, 可能的原因和解决方案有哪些?

- 1) 用的胶是否适合对应产品分子量的分离范围? 标准范围建议使用 12% 或 15% 单浓度及梯度胶进行电泳, 宽范围建议使用梯度胶进行电泳;
- 2) 蛋白 Marker 条带分与凝胶浓度是否匹配? 蛋白 Marker 最小条带可能无法在低百分比的凝胶上的得到有效分离, 较高的分子量条带可能无法在高百分比凝胶上得到有效分离;
- 3) 检测电泳槽正负极是否正确, 内槽电泳液是否加满? 建议外槽电泳液没过电极线 2 cm 以上位置;
- 4) 电泳时间是否合适? 控制电泳时间, 一般建议最后一个条带出现后距离凝胶 1 cm 处停止电泳, 防止条带跑出凝胶导致丢失;
- 5) 产品本身是否无质量问题? 确认产品是否在有效期范围内并按照存储要求保存, 不合理的保存方式可能造成部分或全部蛋白的降解丢失。

### Q3 使用预染 Marker 进行 WB 转膜效果不佳或未转移到膜上, 可能的原因和解决方案有哪些?

- 1) 上样体积不足? 可尝试增加上样量, Mini 胶: 5~10 µl; 大胶板: 10~20 µl;
- 2) 未选择合适的转膜方式和转膜条件? 针对小分子量蛋白转膜建议半干转, 20 kDa 以下蛋白选择 0.22 µm 膜, 并控制好转膜电压及时间, 针对标准分子量蛋白转膜可选择半干转或湿转, 并控制好转膜电压及时间。

**Q4 使用不带标签的蛋白 Marker 或被抗其他标签的抗体抗出条带, 可能的原因和解决方案有哪些?**

- 1) 膜是否存在污染情况? 建议多漂洗几遍;
- 2) 确认抗体抗原是否存在互作情况, 出现非特异性吸附;
- 3) 封闭液是否使用正确或浓度过低造成低效阻塞情况;
- 4) 抗原浓度过低, 如果抗原的相对浓度过低(小于总蛋白的 0.2%) 则可能难以检测, 使得干扰物质与抗体产生非特异性吸附。

**Q5 非预染 Marker 与预染 Marker 的区别是什么, 是否能提供精确的蛋白分子量参考?**

非预染蛋白 Marker 由于没有附带染料分子标记其分子量大小正是蛋白原本的大小, 是预估目的蛋白大小的重要参考。预染蛋白 Marker 是一些纯化较好的蛋白混合物, 通过与染料共价偶联, 在电泳过程中或者转膜时可以直接观察到。预染 Marker 的出现方便了我们的实验, 这种蛋白分子量标准可以帮助我们我们在电泳时, 电泳后, 以及转膜后检测电泳情况和估计迁移率。值得注意的是, 预染蛋白 Marker 与染料共价偶联, 在不同的缓冲条件下电泳时迁移特性可能会发生某些变化, 可能导致一些偏差, 所以不太适合精确定位蛋白。在多数情况下包括非预染 Marker 在内都未必能与目标蛋白分子量完全一致, 所以都只能做的相对定量, 无法做到绝对定量。因此非预染还是预染 Marker 都只能做为估值参考, 并不适用于蛋白定量。

**Q6 不同浓度的胶跑出来的分子量是否有偏差?**

对于非预染 Marker, 理论上从分子量标定上讲是没有偏差的, 但由于部分蛋白受 pH、盐离子浓度或者蛋白本身亲疏水等的性质不同, 都有可能造成迁移率的差异, 从而导致与预期大小有出入。对于预染 Marker, 除了会受到以上影响因子的影响外, 还会与染料分子共价偶联, 造成分子量及迁移特性发生变化, 造成表观分子量与实际分子量有所偏差的情况。

**Q7 在售的蛋白 Marker (包含预染与非预染) 是否可用于非变性电泳 (NativePAGE)?**

目前在售的所有蛋白 Marker 均不适用与非变性电泳 (NativePAGE), 只能用于变性电泳 (SDS-PAGE)。

**Q8 在售的预染蛋白 Marker 中自带标签蛋白的有哪些?**

自带标签的预染蛋白 Marker 有:

C610011: 除 15 kDa 条带不带标签外, 其他条带均带 His 标签;

C510010: 每个条带都带有 His 标签;

此外, 其他在售的预染蛋白 Marker 产品均不带任何标签。