

Gebrauchsanweisung

ROTI®Mark TRICOLOR

ready-to-use

Dreifarbig vorgefärbter Protein-Molekulargewichtsmarker für die SDS-PAGE

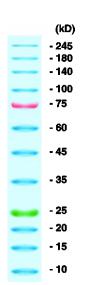


Abbildung:

ROTI®Mark TRICOLOR im Tris-Glycin-Gel, ungefärbt. Bandenschärfe und Auflösung stark abhängig von verwendetem Geltyp und Puffersystem.

I. Einleitung

ROTI®Mark TRICOLOR besteht aus zehn Proteinen, die kovalent mit einem blauen Farbstoff gekoppelt wurden. Zur einfacheren Orientierung im Gel, sowie zur vereinfachten Lauf- und Transferkontrolle wurden zwei Referenzproteine hinzugefügt, ein grün vorgefärbtes Protein mit einem apparenten MW von 25 kD und ein rot vorgefärbtes Protein mit einem apparenten MW von 75 kD.

ROTI®Mark TRICOLOR muss im Gel nicht angefärbt werden und eignet sich deshalb hervorragend zur Überprüfung der Transfereffizienz beim Western-Blot und des Gellaufs während der Elektrophorese.

Die Konzentrationen der Einzelproteine sind so eingestellt, dass im ungefärbten Gel eine gleichmäßige Bandenintensität und optimale Bandenschärfe erzielt wird.
Die Proteine sind in reduzierendem Lämmli-Puffer mit 200 mg/ml (3,6 M) Harnstoff denaturiert.

Die Molekulargewichte der Proteine verändern sich durch die Kopplung mit dem Farbstoff und schwanken je nach Kopplungseffizienz. Weiterhin ist das genaue Laufverhalten der Proteine vom jeweiligen verwendeten Gel- und Puffersystem abhängig. Die Molekulargewichtsangaben sind daher nur ungefähre Angaben. Die tatsächlichen Molekulargewichte können von den angegebenen Werten leicht abweichen

Bitte beachten Sie: ROTI[®]Mark TRICOLOR ist aus diesen Gründen nicht dazu geeignet, Proteingrößen in Gel festzustellen.

II. Verwendung

ROTI®Mark TRICOLOR wird verwendet zur Überprüfung des Trennverhaltens von Proteinen bei der SDS Polyacrylamid-Gelelektrophorese und zur Kontrolle der Transfereffizienz beim Western Blot.

III. Zusammensetzung

12 vorgefärbte Proteine (0,1 – 0,4 mg/ml pro Protein) in wässriger Tris-Glycin-Pufferlösung, mod. nach Lämmli.

IV. Lagerung

- Der Marker sollte für die Langzeitlagerung bei Temperaturen unter dem Gefrierpunkt aufbewahrt werden!
- Der Versand des Markers erfolgt ohne Kühlung oder Trockeneis. Der Marker wird dadurch nicht beeinträchtigt.
- ROTI®Mark TRICOLOR kann bis zu drei Monate bei +4 °C aufbewahrt werden. Trotzdem empfehlen wir für die Langzeitlagerung eine Temperatur von -20 °C. Um häufiges Einfrieren und Auftauen zu vermeiden sollten Aliquots eingefroren werden.
- Der Marker muss normalerweise vor Gebrauch nicht erhitzt werden. Bei längerer Verwendung und Lagerung bei 4 °C können sich jedoch Aggregate bilden. Diese lassen sich durch kurzes Erhitzen (5 min, 80 °C) wieder auflösen.

V. Gelauftrag

• Empfohlene Auftragsmengen für Minigele (10 %; 0,75 mm dick): 3 - 5 µl Western-Transfer: 1,5 - 2,5 µl Silber-Färbung: ca 1 µl

Banden sichtbar ab 3 µl pro Spur.

Wichtig: Die erforderliche Auftragsmenge variiert mit Geldicke, C/T-Verhältnis und Zahnbreite des Kammes.

VI. Trouble Shooting

Marker-Banden nicht oder nur sehr schwach zu sehen

- Achten Sie auf eine korrekte Auftragsmenge. Die empfohlene Menge gilt für Minigele mit 0.75 mm Dicke. Wenn Sie dickere oder größere Gele verwenden, müssen Sie die Auftragsmenge erhöhen.
- Wenige schwache Markerbanden: Unter bestimmten Bedingungen können die Markerproteine agglutinieren. Bringen Sie die Proteine in den Markeraliquots durch Inkubation für 5 min bei 80 °C (alt. 1 min auf 95 °C) wieder in Lösung. Vorsichtig mischen.

Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5 • 76185 Karlsruhe Postfach 100121 • 76231 Karlsruhe Telefon: +49 (0) 721/5606-0 Fax: +49 (0) 721/5606-149

info@carlroth.de • www.carlroth.de

Die Firma ist eine Kommanditgesellschaft mit Sitz in Karlsruhe, Reg. Gericht Mannheim HRA 100055, Persönlich haftende Gesellschafterin ist die Roth Chemie GmbH mit Sitz in Karlsruhe, Reg. Gericht Mannheim HRB 100428. Geschäftsführer: André Houdelet

Marker-Banden verschwommen

- Vermeiden Sie ein Überladen des Gels!
- Achten Sie darauf, dass der Marker nie längere Zeit bei Raumtemperatur gelagert wird.
- Vermeiden Sie häufiges Einfrieren/Auftauen des Markers.
- Die Langzeitlagerung sollte immer bei -20 °C erfolgen.
- Achten Sie beim Gießen des Gels darauf, dass keine Luftblasen eingeschlossen werden.
- Achten Sie beim Gießen des Gels auf gute Durchmischung der Gellösungen.
- Verwenden Sie nur qualitativ hochwertige Acrylamidlösungen, z.B. ROTIPHORESE® Gel 30 (Best.-Nr.: 3029) oder Gel 40 (Best.-Nr.: 3030).
- Vermeiden Sie eine Überhitzung des Gels. Reduzieren Sie bei Bedarf die Spannung.
- Überpüfen Sie die Zusammensetzung und den pH-Wert der verwendeten Puffer, entgasen Sie die Puffer.

Der Marker wird in Gelladepuffer geliefert und ist sofort gebrauchsfertig.

Kein Erhitzen, Verdünnen oder Zusatz von reduzierenden Agenzien nötig!

ROTI®Mark TRICOLOR

8271.1 500 µl (2 x 250 µl)

8271.2 250 µl