

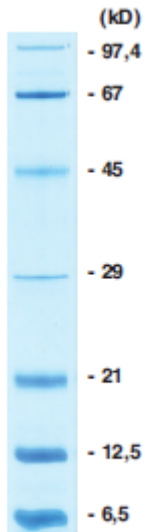
Gebrauchsanweisung



ROTI®Mark SMALL-KOMBI ready-to-use

Protein-Molekulargewichtsmarker
für die SDS-PAGE

nicht vorgefärbt



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

s.s. 02/2022

I. Einleitung

ROTI®Mark SMALL-KOMBI ready-to-use ist ein Proteinmarker für den kleinen Größenbereich. Er besteht aus sieben natürlich vorkommenden Proteinen. Die Konzentrationen der Einzelproteine sind so eingestellt, dass eine gleichmäßige Färbeintensität mit Coomassie-Färbelösungen erreicht wird. Die Proteine sind nicht vorbehandelt und in reduzierendem Lämmli-puffer mit 0,01 % Bromphenolblau gelöst.

Protein	MW (kDa)
Phosphorylase B	97,4
Albumin, Rind (BSA)	67
Ovalbumin	45
Carbonanhydrase	29
Trypsin Inhibitor, Soja	21
Cytochrom C	12,5
Trypsin Inhibitor, Rind	6,5

Proteinkonzentration: 1 mg/ml

II. Lagerung

Lagern Sie ROTI®Mark SMALL-KOMBI ready-to-use bitte bei -20 °C. Der Marker kann kurzfristig (wenige Tage) bei 4 °C aufbewahrt werden. Um häufiges Einfrieren und Auftauen zu vermeiden sollten Aliquots eingefroren werden.

Die Lieferung des Markers erfolgt bei Umgebungstemperatur.

Erwärmen Sie ROTI®Mark SMALL-KOMBI ready-to-use vor Gebrauch bitte langsam, um ausgefallenes SDS wieder in Lösung zu bringen. Der Marker ist in reduzierendem Puffer gelöst. Ein Aufkochen vor der Verwendung ist daher im Allgemeinen nicht notwendig, kann aber die Bandenschärfe erhöhen.

Der Marker sollte nicht längere Zeit bei Temperaturen über dem Gefrierpunkt gelagert werden!

III. Gelauftrag

Empfohlene Auftragsmengen für Minigele:
(10 x 8 cm; 0,75 oder 1 mm Dicke)

Coomassie-Färbung: ca. 5 µl

Silber-Färbung: ca. 1 µl

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

Die Intensität von Coomassie-Färbungen kann je nach Protokoll sehr unterschiedlich ausfallen. Unter Punkt V finden Sie zwei Methoden, die eine effiziente Färbung gewährleisten.

IV. Trouble Shooting

Marker-Banden sind nicht oder nur sehr schwach zu sehen

- Achten Sie auf eine korrekte Auftragsmenge. Die empfohlene Menge gilt für Minigele mit 0,75 mm oder 1 mm Dicke. Wenn Sie dickere oder größere Gele verwenden, müssen Sie die Auftragsmenge erhöhen.
- Erhöhen Sie die Färbeintensität. Verschiedene Färbemethoden können zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen führen. Zwei hervorragende Färbemethoden finden Sie unter Punkt V. Versuchen Sie nicht eine schlechte Färbung durch erhöhten Proteinauftrag auszugleichen. Dies führt zu einem veränderten Laufverhalten der Proteine (sowohl Ihrer Probe als auch des Markers) und unscharfen und dicken Banden.

- Einzelne Banden sind schwach: Die Proteine können unter bestimmten Umständen verklumpen. Resolubilisieren Sie die Markeraliquots durch Erhitzen für 5 min. bei 80 °C. Vorsichtig mischen.

Protein-Banden/Marker-Banden sind verschwommen

- Vermeiden Sie ein Überladen des Gels!
- Achten Sie darauf, dass der Marker nie längere Zeit bei Raumtemperatur gelagert wird. Stellen Sie zur Überbrückung der Zeit zwischen zwei Gelläufen den Marker auf Eis.
- 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.
- Überprüfen Sie die Zusammensetzung und den pH-Wert der verwendeten Puffer, entgasen Sie die Puffer.

Zusätzliche Banden

- Die Markerproteine wurden für die Coomassie-Färbung optimiert. Bei einer Silberfärbung können schwache zusätzliche Banden sichtbar sein.
- Durch lange Lagerung oder vielfaches Auftauen/Einfrieren können die Proteine zu einem geringen Grad zerfallen, was zu einer zusätzlichen schwachen Bande bei ca. 10 kDa führt.

V. Coomassie-Färbung

Mit ROTI®Blue (Best.-Nr. A152):

- Gel nach Gebrauchsanweisung 2 bis 12 h mit ROTI®Blue inkubieren
- Ein Entfärbeschritt ist nicht notwendig

Mit Brilliant Blau G250 (Best.-Nr. 9598):

- Gel 30-60 min in der Fixierungslösung unter leichtem Schütteln inkubieren
- Gel 20-40 min in der Färbelösung unter leichtem Schütteln inkubieren
- Gel 30 sec. in der Fixierungslösung unter leichtem Schütteln inkubieren
- Gel in der Entfärbelösung so lange unter leichtem Schütteln inkubieren, bis die Hintergrundfärbung entfernt ist und die Proteine gut sichtbar werden.
- Fixierungslösung: 40 % Ethanol, 10 % Essigsäure
- Färbelösung: 50 ml Lösung I und 50 ml Lösung II direkt vor der Verwendung mischen
Lösung I: 0,2 % Brilliant Blau G250, 90 % Ethanol
Lösung II: 20 % Essigsäure
- Entfärbelösung: 20 % Ethanol, 10 % Essigsäure

VI. Empfohlene Reagenzien

- Brilliant Blau G250, Best.-Nr.: 9598
- Ethanol, p.a., Best.-Nr.: 9065
- Essigsäure, p.a., Best.-Nr.: 3738
- ROTI®Blue; Best.-Nr.: A152
- ROTI®Blue quick, Best.-Nr.: 4829.1

⚠ Achtung H319 EUH208

ROTI®Mark SMALL-KOMBI ready-to-use
1LCN.1 500 µl