

Gebrauchsanweisung ROTI®Mark



WESTERN PLUS ready-to-use

Vorgefärbter Protein-Molekulargewichtsmarker für SDS PAGE & Detektion auf Western-Blots

- Großer Molekulargewichtsbereich: 15-200 kD
- 10 IgG-bindende und 4 vorgefärbte Proteine
- Verwendbar für die meisten Western-Blots
- Nachweis *ohne zusätzliche Antikörper* möglich
- Eignung für alle gängigen Nachweissysteme
- Stripping und Reprobing möglich

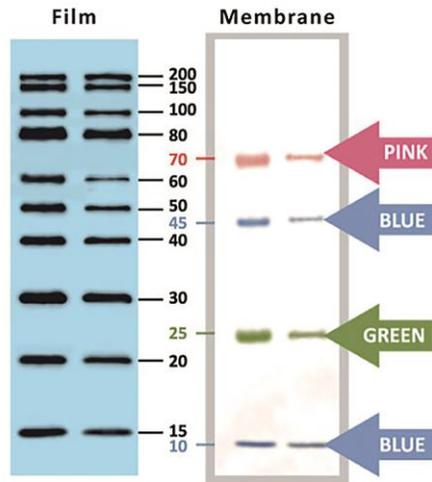


Abbildung:
ROTI®Mark WESTERN PLUS, ungefärbt,
nach Detektion auf Röntgenfilm (links),
nach Western Blot auf PVDF-Membran (rechts)

I. Einleitung

Der ROTI®Mark WESTERN PLUS Proteinmarker deckt einen großen Molekulargewichtsbereich von 15 bis 200 kD ab.

Er besteht aus zehn IgG-bindenden Proteinen mit zwei in ihrer Masse verstärkten Referenzbanden (30 kD und 80 kD). Da es sich bei den meisten primären Antikörpern um Antikörper vom Typ IgG handelt, ist der ROTI®Mark WESTERN PLUS Marker für nahezu das gesamte Spektrum an Western-Blots geeignet.

Zur einfacheren Orientierung im Gel, sowie zur vereinfachten Lauf- und Transferkontrolle sind vier weitere Proteine vorgefärbt: 10 kD (blau), 25 kD (grün), 45 kD (blau) und 70 kD (pink).

Bitte beachten Sie: Die gefärbten Proteine des ROTI®Mark WESTERN PLUS sind nicht dazu geeignet, Proteingrößen im Gel festzustellen. Die Molekulargewichte der Proteine verändern sich durch die Kopplung mit Farbstoff und schwanken je nach Kopplungseffizienz.

Weiterhin ist das genaue Laufverhalten der Proteine vom jeweiligen verwendeten Gel- und Puffersystem abhängig. Die Molekulargewichtangaben sind daher nur ungefähre Angaben. Die tatsächlichen Molekulargewichte können von den angegebenen Werten leicht abweichen.

II. Zusammensetzung

Vier vorgefärbte Proteine und zehn IgG-bindende Proteine in wässriger Tris-Glycin-Pufferlösung, mod. nach Lämmli (Migrationsmuster für verschiedene Puffersysteme s. Tabelle unten).

III. Anwendung

Der Marker hat zwei Funktionen:

- Mit Hilfe der vier vorgefärbten Proteine lassen sich das Trennverhalten bei der SDS PAGE und die Transfereffizienz beim Western Blot kontrollieren.

- Die zehn IgG-bindenden Proteine ermöglichen Immundetektion auf Röntgenfilm oder durch CCD Imaging. Geeignet für alle gängigen Nachweissysteme wie Chemolumineszenz, Fluoreszenz, Farbreaktion etc.

IV. Lagerung

- **Der Marker sollte für die Langzeitlagerung bei -20 °C aufbewahrt werden!**
- **Der Versand des Markers erfolgt ohne Kühlung oder Trockeneis. Der Marker wird dadurch nicht beeinträchtigt.**
- ROTI®Mark WESTERN PLUS 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 (2-5 min, 60 °C) wieder auflösen. Nicht über 80 °C erwärmen!

V. Gelauftrag

Empfohlene Auftragsmengen pro Tasche für Minigele bis 1,5 mm Dicke:

- Western Blot in 2 Schritten mit primärem und markiertem sekundären Antikörper:
1,5 – 2,5 µl
- Western Blot in einem Schritt mit einem markierten Antikörper: 2,5 – 5 µl

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

VI. Passende Antikörper

- Primäre Antikörper (IgG)
- Sekundäre Antikörper mit verschiedensten Markierungen wie HRP, AP, Biotin, Alexa Fluor®, IRDye®

VII. Kompatibilität

Der ROTI®Mark WESTERN PLUS Proteinmarker ist kompatibel mit

- den im Handel befindlichen Gellösungen und Fertiggelen
- PVDF sowie Nitrocellulosemembranen
- Semi-Dry sowie Tankblotting-Systemen
- Milchpulver und ROTI®Block als Blockierungsreagenz, Man beachte: die Verwendung von BSA kann zu erhöhtem Hintergrund führen
- PBS/PBST und TBS/TBST als Puffersystemen

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

ip 07/2021

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

VIII. Verschiedene Migrationsmuster

Je nach verwendetem Puffersystem variiert das ungefähre Molekulargewicht der vorgefärbten Banden:

| Bande | Farbe | Tris-Glycin | Bis-Tris (MOPS) | Bis-Tris (MES) |
|-------|-------|-------------|-----------------|----------------|
| 1 | Pink | 70 | 61 | 62 |
| 2 | Blau | 45 | 41 | 42 |
| 3 | Grün | 25 | 22 | 23 |
| 4 | Blau | 10 | 9 | 10 |

IX. Trouble Shooting

Zu starke oder zu schwache Signale der Markerbanden:

- Die Auftragsmengen an Marker und Antikörperlösung sind an das jeweils verwendete System anzupassen. Sie können abhängig von verwendeter Blotmembran, Transferpuffer, Blockierungslösung, Peroxidase-Substrat und Detektionssystem variieren.
- Wenige schwache Markerbanden: Unter bestimmten Bedingungen können die Markerproteine agglutinieren. Bringen Sie die Proteine in den Markeraliquots durch Inkubation für 2-5 min bei 60 °C wieder in Lösung. Nicht über 80 °C erwärmen!
- Zu schwache Signale der Markerbanden können durch schlechte Transfereffizienz beim Blotten verursacht werden. Beachten Sie die Blot-Zeiten und die Angaben des Geräteherstellers

Hoher Hintergrund

- Achten Sie auf gründliches Waschen nach der Antikörperinkubation.

- Testen Sie andere Blockierungslösungen. Die gelegentlich angewandte Blockierung durch 3%iges BSA führt häufig zu hohem Hintergrund. Setzen Sie z. B. 1% Magermilchpulver in TBST bzw. PBST oder 1 x ROTI®Block ein.

X. Weitere Reagenzien

Pufferreagenzien:

ROTI®Fair TBST (Best.-Nr. 1248)
ROTI®Fair PBST (Best.-Nr. 1115 bzw. 1116)
ROTI®PreMix PBST (Best.-Nr. 0987)
ROTI®Stock 10x PBST (Best.-Nr. 1059)
ROTI®Stock 10x TBST (Best.-Nr. 1061)

Blockierungsreagenzien:

Albuminlösung 20 % (Best.-Nr. 9400)
Albuminlösung 30 % (Best.-Nr. 9401)
Albumin Fraktion V, pH 5,2 (Best.-Nr. 2834)
Albumin, IgG-frei (Best.-Nr. 3737)
Casein Natrium (Best.-Nr. 8569)
Milchpulver (Best.-Nr. T145)
ROTI®Block, 10x Konz. (Best.-Nr. A151)
ROTI®ImmunoBlock, 10x Konz. (Best.-Nr. T144)

Der Marker wird in Gelladepuffer geliefert und ist sofort gebrauchsfertig.

Kein Erhitzen, Verdünnen oder Zusatz von reduzierenden Agenzien nötig!

ROTI®Mark WESTERN PLUS

| | |
|--------|---------------------|
| 2245.1 | 250 µl |
| 2245.2 | 500 µl (2 x 250 µl) |