

For Research Use Only. Not For Use In Diagnostic Procedures

Version 2.0

快速银染试剂盒

Fast Protein Silver Stain Kit



Do not eat

Store at RT & in the dark.



Cat.No. MG79142

Size : 20 tests

Technical literature is available at: www.mesgenbio.comE-mail MesGen Technical Services if you have questions on use of this system: tech@mesgenbio.com

产品原理

蛋白质条带的银染是基于蛋白质中各种基团(如巯基、羰基等)与银的结合,然后用还原剂如甲醛在碱性环境下使 Ag⁺还原成银颗粒,可把蛋白电泳带染成黑褐色。它主要用于聚丙烯酰胺凝胶电泳染色。其灵敏度比考马斯亮蓝高,该产品整个过程操作简单,灵敏度高,能检测到 10ng 以下的蛋白条带。

试剂盒组成

10X 固定液	组分 A	100mL
10X 增敏液	组分 B	100mL
5X 显色液	组分 C	400mL
10X 终止液	组分 D	100mL
辅助剂	组分 E	1mL
银染剂	组分 F	2g

染色液配制

1X 固定液: 取 40mL 无水乙醇, 10mL 10X 固定液(组分 A) 加去离子水至 100mL, 混匀;

1X 增敏液: 取 30mL 无水乙醇, 10mL 10X 增敏液(组分 B) 加去离子水至 100mL, 混匀;

1X 银染液: 取 0.2g 银染剂(组分 F), 用 50mL 去离子水溶解, 加入 40ul 辅助剂(组分 E) 混匀, 加去离子水至 100mL, 现用现配。

1X 显色液: 取 20mL 5X 显色液(组分 C) 和 20μL 辅助剂(组分 E) 加入去离子水至 100mL, 混匀, 现用现配。

1X 终止液: 取 10mL 10X 终止液(组分 D) 加入去离子水至 100mL, 混匀, 现用现配。

染色步骤

1. PAGE 电泳结束后, 将 PAGE 蛋白胶转移至玻璃平皿或搪瓷盘中, 用 1X 固定液固定 30min。
2. 用蒸馏水浸泡 3×10min, 期间 3 次换水;
3. 将 PAGE 胶浸入 1X 增敏液中, 室温作用 30min, 可置于摇床上缓慢摇晃;

4. 用蒸馏水浸泡 3×10min, 期间 3 次换水;
5. 将 PAGE 胶浸入 1X 银染液中, 室温缓慢摇晃 30-40min。
6. 用蒸馏水浸泡 3×20sec。注意把握时间, 水洗时间过长会导致后续显色速度慢, 显色偏黄; 水洗不充分, 则背景较深;
7. 将 PAGE 胶浸入 1X 显色液中, 室温缓慢摇晃, 显色一般在 2-15min 左右即可, 显色时间视凝胶大小、厚度情况而定。看到各条带, 即可将凝胶捞出;
8. 弃去显色液, 加入 1X 终止液即可, 浸泡 10min;
9. 凝胶可保存于 1% 乙酸溶液中, 4°C。

注意事项

1. 银染主要出现在 PAGE 胶的表面, 使用薄胶 (0.5-0.75mm) 可以提高灵敏度。
2. 对于考马斯亮蓝染色的 SDS-PAGE 胶, 可用甲醇将胶漂洗后, 继续进行银染。考染过程中的乙酸会干扰银染, 因此要确保将 PAGE 凝胶中残留的乙酸彻底洗净。
3. 不同蛋白质对银染的反应是不一样的, 尤其是碱性蛋白染色效果差。因此, 不宜用银染测定不同蛋白的比例。
4. 染色过程中, 缓慢的振荡是必要的, 一般选择 40-60rpm。
5. PAGE 凝胶背景呈均一的黑色多是水中的杂质引起的, 所以溶液的配制应使用电导率小于 1μS 的去离子水。
6. 如果染色后有呈灰尘或烟雾状灰色或棕色的沉淀出现在凝胶表面, 可能是在几步漂洗过程中洗得不够彻底, 或是染色过程时温度太低。
7. 较深的银染背景多是丙烯酰胺中的杂质所致。
8. PAGE 胶中的甘油、尿素、甘氨酸、TritonX-100 和两性电解质这些物质会干扰银染。
9. 室温操作时, 温度的波动往往会干扰银染的效果, 建议恒温水浴。
10. 凭借戊二醛预处理可以使各种蛋白质的染色提高 40 倍。
11. 染色使用的玻璃器皿必须非常干净, 用酸浸泡可以满足要求。
12. 银染应尽快照相, 随着时间延长, 蛋白条带会变浅, 而背景会加深。
13. 银染容器最理想的是玻璃平皿, 其次是搪瓷盘和密胺塑料盘等。
14. 试剂如有沉淀析出, 混匀溶解(可加热)后室温使用。

备注说明

20tests规格指可配制的银染液的体积, 实际使用次数根据PAGE胶大小不同而不同。

产品仅供科学研究 禁止用于临床诊断、治疗

For Research Use Only. Not For Use In Diagnostic Procedures