

CAT#:100810-1000
常温运输及保存

TIANDZ

超快蛋白质银染试剂盒

Rapid Silver Stain for Protein

使用手册 V1.1

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506
网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

产品及特点	<p>核酸银染的原理是银离子(Ag⁺) 可与蛋白质等大分子有机物形成稳定的复合物，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 100 倍。但常规的银染方法由固定、氧化、染色、显影、终止等步骤组成，操作十分繁琐，尤其不适用于大批量实验。为解决此问题，本公司推出本产品，其特点如下：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 超快，整个过程只需要不到 60 分钟。 2. 操作简单，只有固定（30 分钟）、染色（10 分钟）和显影（10 分钟）三步。 3. 灵敏度比考马斯亮蓝染色高 100 倍，能检测到 10ng 的蛋白质条带。 4. 三个成分中的两个都是现用现配，可重复性好。 																					
规格及成分	<table border="1" data-bbox="547 752 1341 1201"> <thead> <tr> <th>成份</th><th>编 号</th><th>1000 mL 包装</th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td>溶液 A 组分一（干粉）</td><td>100810A1</td><td>2 g</td></tr> <tr> <td>溶液 A 组分二，10X</td><td>100810A2</td><td>100 mL</td></tr> <tr> <td>溶液 A 组分三，10X</td><td>100810A3</td><td>100 mL</td></tr> <tr> <td>溶液 B 组分一，10X</td><td>100810B1</td><td>100 mL</td></tr> <tr> <td>溶液 B 组分二</td><td>100810B2</td><td>5 mL</td></tr> <tr> <td>使用手册</td><td>100810sc</td><td>1 份</td></tr> </tbody> </table> <p>注：1000mL 规格指可配制的溶液 A（染色液）的体积，实际使用次数根据 PAGE 胶大小不同而不同。</p>	成份	编 号	1000 mL 包装	溶液 A 组分一（干粉）	100810A1	2 g	溶液 A 组分二，10X	100810A2	100 mL	溶液 A 组分三，10X	100810A3	100 mL	溶液 B 组分一，10X	100810B1	100 mL	溶液 B 组分二	100810B2	5 mL	使用手册	100810sc	1 份
成份	编 号	1000 mL 包装																				
溶液 A 组分一（干粉）	100810A1	2 g																				
溶液 A 组分二，10X	100810A2	100 mL																				
溶液 A 组分三，10X	100810A3	100 mL																				
溶液 B 组分一，10X	100810B1	100 mL																				
溶液 B 组分二	100810B2	5 mL																				
使用手册	100810sc	1 份																				
运输及保存	常温运输及保存，有效期一年。																					
自备试剂	去离子水，乙醇和乙酸。																					
使用方法	<p>一：配制银染固定液 100 mL（对 mini PAGE 胶） 将 40mL 无水乙醇、10mL 乙酸和 50 mL 去离子水充分混合即可使用。</p> <p>二：配制溶液 A</p> <p>需要配制的溶液 A（染色液）的体积完全跟 PAGE 胶的大小相关，一般的 mini-PAGE 胶需要 20-30mL。下面的用量是针对配制 100mL 溶液 A。如果配制的溶液 A 的体积不是 100mL，则需按比例改变各成分用量。在一干净烧杯中加入下列成分搅拌混匀即可。溶液 A 需要新鲜配制。</p> <table border="1" data-bbox="754 1920 1135 2115"> <thead> <tr> <th>成分</th><th>用量</th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td>去离子水</td><td>80 mL</td></tr> <tr> <td>溶液 A 成分一</td><td>0.2 g</td></tr> </tbody> </table>	成分	用量	去离子水	80 mL	溶液 A 成分一	0.2 g															
成分	用量																					
去离子水	80 mL																					
溶液 A 成分一	0.2 g																					

溶液 A 成分二	10 mL
溶液 A 组分三	10 mL

二：配制溶液 B

需要配制的溶液 B (显色液) 的体积完全跟 PAGE 胶的大小相关，一般的 mini-PAGE 胶需要 20-30mL。下面的用量是针对配制 100mL 溶液 B。如果配制的溶液 B 的体积不是 100mL，则需按比例改变各成分用量。在一干净烧杯中加入下列成分搅拌混匀即可。溶液 B 需要新鲜配制。

成分	用量
去离子水	89.5 mL
溶液 B 成分一	10 mL
溶液 B 组分二	0.5 mL

三：银染

1. PAGE 电泳或 SDS-PAGE 电泳结束后，将胶转移到装有 100 mL 银染固定液的瓷盘中，摇晃 30 分钟以去除干扰银染的成分（如甘氨酸、SDS、DTT、甘油等）。注：此步很重要，否则银染背景很高。
2. 用 100 mL 去离子水漂洗 2 次，每次 2 分钟。
3. 将 PAGE 胶转移到适当体积的溶液 A 中，使溶液 A 在轻柔摇晃过程中能够淹没 PAGE 胶。室温摇晃处理 10 分钟。
4. 倒掉溶液 A，用 100 mL 去离子水快速漂洗 2 次，每次半分钟。
5. 将 PAGE 胶转移到适当体积的溶液 B 中，使溶液 B 在轻柔摇晃过程中能够淹没 PAGE 胶。室温摇晃直到蛋白电泳条带显现（一般需要 10 分钟左右）。
6. 迅速将 PAGE 胶置于适当背景下照相留存。胶的颜色肯能会逐渐加深，如果有必要保存胶，可以用自备的 5% 的乙酸终止显色。

技术资料

核酸和蛋白质银染注意事项

1. 银染主要出现在 PAGE 胶的表面，故用薄胶 (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。

	<p>4. 染色过程中，缓慢的振荡是必要的，一般选择 40-60 rpm。</p> <p>5. 凝胶表面的裂纹多是由于压力、手印及表面干燥所致，所以全程操作中都应带手套。</p> <p>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。</p> <p>7. 较深的银染背景多是丙烯酰胺中的杂质所致。</p> <p>8. 室温操作时，温度的波动往往会干扰银染的效果，恒温水浴可以解决这个问题。</p> <p>9. SDS-PAGE 凝胶中的巯基乙醇会导致在 60 KDa 或 67 KDa 处出现两条带。减少巯基乙醇的用量即可避免。</p> <p>10. 凭借戊二醛预处理可以使各种蛋白质的染色提高 40 倍。</p> <p>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。</p> <p>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。</p> <p>13. 影响硝酸银染色效果的因素很多，其使用容器的材质也是一个非常重要的因素。通常使用的容器材质有玻璃、密胺塑料、搪瓷等。通过本实验发现，SDS-PAGE 硝酸银染色使用不同材质的容器其效果有明显区别。对比发现，玻璃平皿是最理想的银染容器，相同条件下显色快，染色敏感度和条带灰度值高，明显优于使用医用搪瓷盘和密胺塑料盘。</p> <p>14. 银染器皿也非常重要。最好是玻璃平皿，因为其化学性质极其稳定，几乎不与银染试剂中的任何成分发生反应，且不具有吸附染料的特性。其次是医用搪瓷盘，瓷釉为无机玻璃质材料，能耐各种浓度的无机酸(包括强氧化性酸)、有机酸、弱碱和强有机溶剂，但不耐酸、碱介质交替使用，而常规银染法就是酸碱介质交替使用，因此搪瓷盘银染效果不如玻璃平皿。塑料种类较多，如果塑料是由含氨基官能团的有机物(脲、三聚氰胺或苯代三聚氰胺)与醛类(主要是甲醛)化合物经缩聚反应而得，则这种塑料会在碱性溶液中与有强还原作用的甲醛发生反应，进而使甲醛消耗，减弱银离子与蛋白的结合，降低显色敏感度和显色速度。</p>
关联产品	质谱兼容型蛋白质银染试剂盒，脱银试剂盒。