

蛋
白
质
系
列

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

| <p>产品及特点</p> | <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。 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------|--|------------|--|----|----|------------|--------------|----------|-------|--------------|----------|--------|--------------|----------|--------|--------------|----------|--------|----------|----------|------|------|----------|-----|
| <p>规格及成分</p> | <table border="1" data-bbox="557 752 1347 1200"> <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 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>运输及保存</p> | <p>常温运输及保存，有效期一年。</p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>自备试剂</p> | <p>去离子水，乙醇和乙酸。</p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>使用方法</p> | <p>一：配制银染固定液 100 mL（对 mini PAGE 胶）</p> <p>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="767 1928 1134 2116"> <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均匀即可。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。胶的颜色可能会逐渐加深，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。

4. 染色过程中，缓慢的振荡是必要的，一般选择 40-60 rpm.
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。
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. 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。
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。
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. 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。
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。

关联产品

质谱兼容型蛋白质银染试剂盒，脱银试剂盒。