

天  
净  
沙  
系  
列

CAT#:131075-10  
常温运输和保存

**TIANDZ**

# 糖蛋白染色试剂盒

Staining Kit for Glycoprotein

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](http://www.tiandz.com); 电话: 400-6765278; 电邮: [order@tiandz.com](mailto:order@tiandz.com)

<p><b>产品及特点</b></p>	<p>本产品为在 PAGE 凝胶或蛋白免疫印记硝酸纤维素膜上检测糖蛋白的试剂盒。该方法使用三种试剂，所需时间仅需不到两小时，而其他的染色方法需要四到五小时。染色后的糖蛋白为品红色条带，背景为浅粉色或者无色。它有如下特点：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 一站式，包括一种阳性对照蛋白及一种阴性对照蛋白，用户不要单独配制所需成分，简单快捷。</li> <li>2. 通过共价修饰方式检测糖基，不检测蛋白部分。</li> <li>3. 灵敏度一般可以达到微克级别，但实际灵敏度跟靶蛋白糖基化程度相关。</li> <li>4. 可以用于 SDS-PAGE 和 2D 电泳的凝胶检测，也可以用于琼脂糖凝胶电泳的检测（但背景较高），还可以用于硝酸纤维素印迹膜的检测。</li> <li>5. 本产品足够染色 10 张 mini-PAGE 胶或 20 张 8×8cm 的蛋白印迹纤维素膜。</li> </ol>																										
<p><b>规格及成分</b></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>编号</th> <th>大纸盒包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>氧化试剂</td> <td>131075a</td> <td>2.5 g (棕色管)</td> </tr> <tr> <td>糖蛋白染色试剂</td> <td>131075b</td> <td>250 mL (棕色瓶)</td> </tr> <tr> <td>还原试剂</td> <td>131075c</td> <td>1.25 g</td> </tr> <tr> <td>阳性对照 (辣根过氧化物酶)</td> <td>131075d</td> <td>1 mg (棕色管)</td> </tr> <tr> <td>阴性对照 (大豆胰蛋白酶抑制剂)</td> <td>131075e</td> <td>1 mg (棕色管)</td> </tr> <tr> <td>250mL 塑料瓶 (空)</td> <td>-</td> <td>2 个</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>131075sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>			成份	编号	大纸盒包装	氧化试剂	131075a	2.5 g (棕色管)	糖蛋白染色试剂	131075b	250 mL (棕色瓶)	还原试剂	131075c	1.25 g	阳性对照 (辣根过氧化物酶)	131075d	1 mg (棕色管)	阴性对照 (大豆胰蛋白酶抑制剂)	131075e	1 mg (棕色管)	250mL 塑料瓶 (空)	-	2 个	使用手册	131075sc	1 份
成份	编号	大纸盒包装																									
氧化试剂	131075a	2.5 g (棕色管)																									
糖蛋白染色试剂	131075b	250 mL (棕色瓶)																									
还原试剂	131075c	1.25 g																									
阳性对照 (辣根过氧化物酶)	131075d	1 mg (棕色管)																									
阴性对照 (大豆胰蛋白酶抑制剂)	131075e	1 mg (棕色管)																									
250mL 塑料瓶 (空)	-	2 个																									
使用手册	131075sc	1 份																									
<p><b>运输及保存</b></p>	<p>常温运输和保存，但阳性对照和阴性对照干粉需要 4℃ 或更低温度长期保存，有效期一年，但糖蛋白染色试剂的有效期只有半年（从出厂时间开始计算）。</p>																										
<p><b>自备试剂</b></p>	<p>甲醇、冰醋酸、超纯水、1×SDS-PAGE 上样缓冲液等</p>																										
<p><b>使用方法</b></p>	<p><b>实验前准备</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 配制 3%醋酸溶液：将 30 mL 自备的冰醋酸与 970 mL 超纯水混匀，室温保存备用。</li> <li>2. 配制 50%甲醇溶液：将 250 mL 甲醇与 250 mL 超纯水混匀，室温保存备用。</li> <li>3. 配制氧化试剂溶液：将本试剂盒提供的氧化试剂干粉转移到本试剂盒提供的 250mL 空塑料瓶中，然后加入 250 mL 的 3%醋酸溶液（第 1 步配制），充分混匀溶解后得到氧化试剂溶液，室温保存备用。</li> </ol>																										

4. 配制还原试剂溶液: 将本试剂盒提供的还原试剂干粉转移到本试剂盒提供的 250mL 空塑料瓶中, 然后加入 250 mL 的超纯水, 充分混匀溶解后得到还原试剂溶液, 室温保存备用。
5. 配制阳性对照 (辣根过氧化物酶) 溶液: 向装有 1 mg 辣根过氧化物酶固体的棕色管中加入 1 mL 1×SDS-PAGE 上样缓冲液 (自备), 所得辣根过氧化物酶溶液的浓度即为 1mg/mL, 然后分装成 100uL/管共 10 管, 留下一管当天使用, 其余的放-20℃长期保存。对于 80 mm×80 mm 的凝胶来说, 每条泳道加 10 μL 的阳性对照溶液即可。
6. 配制阴性对照 (大豆胰蛋白酶抑制剂) 溶液: 向装有 1 mg 大豆胰蛋白酶抑制剂干粉的管中加入 1×SDS-PAGE 上样缓冲液 (自备), 所得大豆胰蛋白酶抑制剂溶液的浓度即为 1 mg/mL, 然后分装成 100uL/管共 10 管, 留下一管当天使用, 其余的放-20℃长期保存。对于 80 mm×80 mm 的凝胶来说, 每个泳道加 10 μL 的阴性对照溶液即可。
7. 样品稀释: 用 SDS-PAGE 上样缓冲液将样品浓度稀释为 1mg/mL, SDS-PAGE 上样缓冲液终浓度为 1×。对于 80 mm×80 mm 的凝胶来说, 每个泳道加 10μL 的样品。

#### **凝胶染色的操作步骤 (注意:请在通风橱中进行以下操作)**

8. 取出电泳后的 SDS-PAGE 凝胶, 加入到装有 100mL 50%甲醇溶液的器皿中, 完全浸泡 30 分钟后, 倒出甲醇溶液。
9. 用 100mL 3%醋酸溶液洗涤胶块两次, 每次轻轻振荡 10 分钟。
10. 将胶块转移到装有 25mL 氧化试剂的器皿中, 轻轻振荡 15 分钟。
11. 用 100mL 3%醋酸溶液洗涤胶块 3 次, 每次轻轻振荡 5 分钟。
12. 将胶块转移到装有 25mL 糖蛋白染色试剂的器皿中, 轻轻振荡 15 分钟。  
(注: 若染色试剂中有晶体析出, 只需取上清液即可, 不要加热溶解晶体。)
13. 将胶块转移到装有 25mL 还原试剂的器皿中, 轻轻振荡 5 分钟。
14. 用 3%醋酸溶液洗涤胶块, 然后用超纯水洗涤至显色, 糖蛋白将显现为品红条带。胶块保存在 3%醋酸溶液中。

#### **硝化纤维素膜染色的操作步骤 (注意:请在通风橱中进行以下操作)**

1. 用 20mL 3%醋酸溶液洗涤膜两次, 每次轻轻振荡 10 分钟。
2. 将膜转移到 10mL 的氧化试剂中, 轻轻振荡 15 分钟。
3. 用 10mL 3%醋酸溶液洗涤膜 3 次, 每次轻轻振荡 5 分钟。

	<ol style="list-style-type: none"> <li>4. 将膜转移到 10mL 的糖蛋白染色试剂中，轻轻振荡 15 分钟。（注：若染色试剂中有晶体析出，只需离心取上清液去除晶体即可，不要加热来溶解晶体。）</li> <li>5. 将膜转移到 10 mL 还原试剂中，轻轻振荡 5 分钟。</li> <li>6. 用 3%醋酸溶液洗涤膜，然后用超纯水洗涤至显色，糖蛋白将显现为品红条带。膜可保存在 3%醋酸溶液中。</li> <li>7. 检测后如果没有条带，可以用转膜后的 PAGE 胶进行检测，因为糖蛋白（尤其是高度糖基化的蛋白）转膜效果比较差。</li> </ol>
<p><b>关联产品</b></p>	<p>超快蛋白银染试剂盒（CAT#:100810）、质谱兼容型蛋白银染试剂盒（CAT#:100811）</p>