

蛋
白
质
系
列

CAT#:100811-10
常温运输及保存

TIANDZ

质谱兼容型蛋白银染试剂盒

MS-Compatible Silver Stain for Protein

使用手册 V1.0

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>银染是目前检测 PAGE 电泳分离后的蛋白质的最灵敏的方法，MS（质谱）是确定未知蛋白最常用和最快捷的方法，但将银染得到的蛋白直接用于 MS 分析有很多问题，其中最主要问题是常规银染所使用的试剂（包括强氧化剂和醛类）容易使蛋白质发生化学修饰，这样 MS 分析得到的氨基酸信息跟蛋白质实际的氨基酸信息并不相同。为了使银染得到的蛋白质可以用于 MS 分析，为此本公司开发 MS 兼容型银染试剂盒，其特点如下：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 跟 MS 兼容，原理是避免使用能化学修饰蛋白质的试剂，所得蛋白质没有发生化学修饰，故可直接用于后续的 MS（包括 MALDI-TOF-MS 和 ESI-MS）分析。 2. 银染的灵敏度比考马斯亮蓝染色高 100 倍左右，可达 0.2-0.6 ng 蛋白质/条带。 3. 可用于各种 PAGE 胶，包括变性 PAGE 胶（如 SDS-PAGE，尿素-PAGE），非变性 PAGE 胶，IEF 胶（等电电泳胶），2D 胶等。 4. 四种溶液都是现用现配，实验结果的可重复性好。 																													
<p>规格及成分</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>编号</th> <th>10 次包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>溶液 A 组分一干粉</td> <td></td> <td>1 份</td> </tr> <tr> <td>溶液 A 组分一溶剂</td> <td></td> <td>100 mL</td> </tr> <tr> <td>溶液 A 组分二干粉</td> <td></td> <td>10 份</td> </tr> <tr> <td>溶液 B 干粉</td> <td></td> <td>5 g（棕色瓶）</td> </tr> <tr> <td>溶液 C 组分一干粉</td> <td></td> <td>10 份</td> </tr> <tr> <td>溶液 C 组分二</td> <td></td> <td>2 mL</td> </tr> <tr> <td>溶液 D 干粉</td> <td></td> <td>10 份</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>100811sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>			成份	编号	10 次包装	溶液 A 组分一干粉		1 份	溶液 A 组分一溶剂		100 mL	溶液 A 组分二干粉		10 份	溶液 B 干粉		5 g（棕色瓶）	溶液 C 组分一干粉		10 份	溶液 C 组分二		2 mL	溶液 D 干粉		10 份	使用手册	100811sc	1 份
成份	编号	10 次包装																												
溶液 A 组分一干粉		1 份																												
溶液 A 组分一溶剂		100 mL																												
溶液 A 组分二干粉		10 份																												
溶液 B 干粉		5 g（棕色瓶）																												
溶液 C 组分一干粉		10 份																												
溶液 C 组分二		2 mL																												
溶液 D 干粉		10 份																												
使用手册	100811sc	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（最好 MilliQ 级别，电导在 5MΩ以上），甲醇和乙酸。</p>																													
<p>使用方法</p>	<p>准备工作</p> <p>所有溶液均需现配现用。以下按一块 PAGE 胶需要 200 mL 溶液配制，用户可以根据自己 PAGE 胶的大小增减溶液的用量。</p> <p>一：用自备试剂配制 400 mL 固定液（按一次银染需要固定 2 次计算，每次固定需 200 mL 固定液）</p>																													

将 160 mL 甲醇、40 mL 乙酸和 200 mL 去离子水充分混合后即得 400 mL 固定液。

二：配制 200 mL 溶液 A

先配制溶液 A 组分一储备液：将溶液 A 组分一干粉加入到 100 mL 溶液 A 组分一溶剂中，充分摇晃溶解即得溶液 A 组分一储备液。此溶液可以 4℃ 保存。
将 60 mL 甲醇、8 mL 溶液 A 组分一储备液、1 份溶液 A 组分二（干粉）和 132 mL 去离子水充分混合后即得 200 mL 溶液 A。

三：配制 200 mL 溶液 B

称 0.5g 溶液 B 干粉，溶于 200 mL 去离子水中，充分混合后即得 200 mL 溶液 B。

四：配制 200 mL 溶液 C

将 1 份溶液 C（干粉）溶解在 200 mL 去离子水中（干粉不容易溶解，需搅拌）即得溶液 C。注意：使用前还需要再加入 160 μ L 溶液 C 组分二并充分混匀。

五：配制 200 mL 溶液 D

将 1 份溶液 D（干粉）溶解在 200 mL 去离子水中即得溶液 D。

银染

1. PAGE 电泳（包括非变性 PAGE, SDS-PAGE, 尿素-PAGE, 2D-PAGE, IEF-PAGE 等）结束后，将 PAGE 胶转移到装有 200 mL 固定液的瓷盘或玻璃盘中，摇晃 30 分钟以去除干扰银染的组分（如甘氨酸、SDS、尿素、DTT、甘油等），倒掉固定液。注：此步很重要，否则银染背景很高。
2. 重复上步一次。
3. 将 PAGE 胶转移到 200 mL 溶液 A 中，室温摇晃 30 分钟。
4. 用 200 mL 去离子水漂洗 3 次，每次 5 分钟（不要延长或缩短）。
5. 将 PAGE 胶转移到 200 mL 的溶液 B 中，室温摇晃 20 分钟。
6. 用 200 mL 去离子水漂洗 2 次，每次 1 分钟（不要延长或缩短）。
7. 将 PAGE 胶转移到 200 mL 的溶液 C 中，室温摇晃直到蛋白电泳条带显现（一般需要 10 分钟左右）。
8. 将 PAGE 胶转移到 200 mL 的溶液 D 中，室温摇晃终止反应。
9. 用 200 mL 去离子水漂洗 3 次，每次 5 分钟（不要延长或缩短）。
10. 切下条带或胶块进行后续的脱银，原位 trypsin 酶解，多肽沉淀和 MS 分

	析 (略)。
技术资料	<p style="text-align: center;">MS 前处理步骤 (仅供参考)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 脱银: 将切下的银染斑点或条带用脱银液 (30 mM $K_3Fe(CN)_3$ 和 100 mM $Na_2S_2O_3$ 的 1: 1 的混合液) 处理直到黑色消失。 2. 还原: 将胶块或胶条置于 10 mM DTT (溶剂为 50 mM NH_4HCO_3), 56°C 处理一小时。 3. 烷化: 将胶块或胶条置于 55 mM 碘乙酰胺 (溶剂为 50 mM NH_4HCO_3), 室温避光处理 45 分钟。 4. 原位 trypsin 酶解: 将胶块或胶条置于 10 ng/uL 测序级别的 trypsin 溶液中 (溶剂为 25 mM NH_4HCO_3), 37°C 处理过夜。 5. 多肽提取: 用 5% 三氟乙酸抽提酶解液, 再用 2.5% 三氟乙酸-50%ACN 混合液抽提酶解液, 上清真空干燥, 沉淀 (多肽) 最后溶于 0.5% 三氟乙酸中。 6. MS 分析: 参考相关 MS 仪器使用手册。
关联产品	银染清除剂(CAT#:100603-30)