

蛋白快速银染试剂盒

货号: P1027-20T

存储条件: 常温, 6 个月有效

产品简介:

蛋白快速银染试剂盒是一种快速的可用于 SDS-PAGE 或非变性 PAGE 等蛋白银染染色的试剂盒, 本试剂盒含有增敏步骤, 可明显降低背景。另外本产品还有以下优点: ①操作简单快速; ②用于 2D 凝胶的银染, 并可进行后续的质谱检测; ③目的条带清晰; ④不含甲醇。

本蛋白快速银染试剂盒灵敏度为 0.2~10ng 蛋白/条带。试剂盒仅用于科研领域, 不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称	规格	存储条件
试剂 A: Silver Stain Sensitizer(500x)	2x1ml	常温
试剂 B: Silver Stain (100 x)	10ml	常温, 避光
试剂 C1: Silver Stain Developer(5x)	2x100ml	常温, 避光
试剂 C2: Color Development Accelerator(1000x)	1.5ml	常温
试剂 D: Silver Stain Stop Buffer(10x)	100ml	常温

自备材料:

- 1.水平摇床或侧摆摇床
- 2.去离子水 (超纯)
- 3.乙醇、冰乙酸

操作步骤(仅供参考):

1. 准备工作

以下操作以 8.5x5.5cm、厚度为 1.0mm 的凝胶为例, 以凝胶全部浸没到溶液为准, 一般用量是 25mL, 对于凝胶体积较大的, 各溶液的使用量需按凝胶体积比例放大。整个银染过程应在摇床上进行, 摇床转速控制在 60-70rpm。提前配制固定液, 即按无水乙醇: 冰乙酸: 去离子水=5: 1: 4 的比例配制。提前配制洗涤液, 即按无水乙醇: 去离子水=1:4 的比例配制。

2. 水洗

电泳结束后, 取凝胶放入去离子水中清洗 2 次, 每次 5min.

3. 固定

取凝胶放入 50-100ml 固定液中, 在摇床上室温摇动 15-20min, 重复固定步骤 1 次。

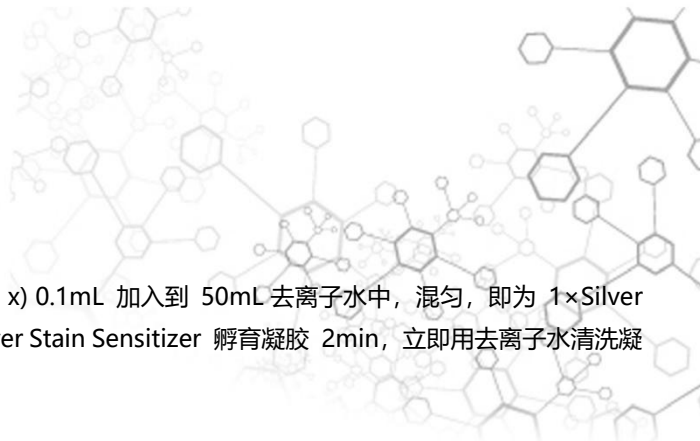
4. 洗脱

取凝胶放入洗涤液中清洗 2 次, 每次 5min。

5. 水洗

去离子水清洗凝胶 2 次, 每次 5min。





6. 增敏

配制银染增敏工作液，即取 Silver Stain Sensitizer(500 x) 0.1mL 加入到 50mL 去离子水中，混匀，即为 1xSilver Stain Sensitizer，一般应 2h 内用完。室温下用 1x Silver Stain Sensitizer 孵育凝胶 2min，立即用去离子水清洗凝胶 2 次，每次 1min。

7. 银染

配制银染工作液，即取 Silver Stain(100 x)0.5mL 加入到 50mL 去离子水中，混匀，即得 1x Silver Stain，一般应 2h 内用完。将凝胶放入 1 xSilver Stain，在摇床上室温摇动 10-20min。

8. 水洗

弃液，在摇床上用去离子水清洗凝胶 2 次，每次 30s，摇动速度在 60-70rpm 总的水洗时间应控制在 1.5min 内。

9. 显影

配制银染显影工作液，即取 Silver Stain Developer(5x)10ml 和 0.05ml Color Development Accelerator(500x) 依次加入到 40ml 去离子水中，混匀，即为 1x Silver Stain Developer 工作液，一般应 30min 内用完。清洗凝胶后，立即置于 1x Silver Stain Developer 工作液中，室温孵育 2-10min，直至蛋白条带清晰可见。一般显色 30s 后就会出现棕色沉淀，继续显影 2-3min，亦可延长至 5min 以上，如果显影效果不佳，可重新更换 1xSilver Stain Developer 工作液继续显影。

10. 终止

迅速用去离子水清洗凝胶以避免显影过度，背景染色。立即加入银染终止液，摇床上摇动 10min，以终止显色反应。

(配制银染终止液，即取 Silver Stain Stop Buffer(10x)10mL 加入到 90mL 去离子水中，混匀，即为 1x Silver Stain Stop Buffer，一般应 24h 内用完。)

11. 保存

弃终止液，加入去离子水 50mL，摇床上摇动 2-5min，弃液。短期保存于新鲜去离子水，长期保存可制备干胶。

注意事项

- 背景过深：①显色时间过长；②洗涤不充分；③凝胶中残留物质未去除干净；④去离子水的纯度过低
- 蛋白条带较浅：①蛋白的半胱氨酸含量过低；②银染后水洗时间过长；③蛋白量较低；④固定后的洗涤时间不够，导致乙酸残留。
- 凝胶上出现杂质或非蛋白的印迹：①凝胶没有被充分浸没，应加入足量溶液；②容器没有清洗干净；③凝胶接触金属物质；④指纹或其他压迹。
- 试剂 D 呈酸性，有轻微腐蚀性，使用时请务必做好防护。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴手套操作。
- 试剂开封后请尽快使用，以免影响后续实验效果。

