

PAGE 凝胶快速银染试剂盒

货号: AC11932

规格: 1L

保存: 室温(15°C-25°C) 干燥保存, 复检期 12 个月。

试剂盒内容	AC11932
染色液 A	200ml
染色液 B	1ml
染色液 C	100ml
显色液 D	100ml
试剂 E	2g

注: 1L 规格指可配制的银染液的体积, 实际使用次数根据 PAGE 胶大小不同而不同。

产品说明:

蛋白质条带的银染是基于蛋白质中各种基团(如巯基、碳基等)与银的结合, 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, 该产品整个过程操作简单, 灵敏度高, 能检测到 10ng 以下的蛋白条带。

操作步骤:

一、染色液配制(无水乙醇自备)

需要配制的染色液体积根据 PAGE 胶的大小而定, 一般的 mini-PAGE 胶需要 20-30mL。配制用的器皿清洗干净后用去离子水涮洗, 染色液须用去离子水配制, 现用现配。如果配制的溶液体积不是 100mL, 可以按比例改变各成分用量。

1. 固定液: 取 40ml 无水乙醇, 10ml 染色液 A 加去离子水至 100ml, 混匀;
2. 敏化液: 取 30ml 无水乙醇, 10ml 染色液 C 加去离子水至 100ml, 混匀;
3. 银染液: 称取 0.12g 试剂 E, 用 50ml 去离子水溶解, 加入 10ul 染色液 B 混匀, 加去离子水至 100ml 现用现配。
4. 显色液: 10ml 显色液 D 和 30ul 染色液 B 加入去离子水至 100ml, 混匀, 现用现配。
5. 终止液: 取 5ml 染色液 A 加去离子水稀释至 100ml, 现用现配。

二、染色:

1. PAGE 电泳结束后, 将 PAGE 蛋白胶转移至玻璃平皿或搪瓷盘中, 用固定液固定 30min。
2. 将 PAGE 胶转移至敏化液中, 使染液没过 PAGE 胶, 室温作用 30min。可置于摇床上缓慢摇晃
3. 弃去敏化液, 用去离子水漂洗三次, 每次 10min。
4. 将 PAGE 胶转移至银染液中, 使染液没过 PAGE 胶, 室温摇晃 40min。
5. 将 PAGE 胶转移至显色液中, 使显色液没过 PAGE 胶, 室温摇晃, 该显色一般在 10min 左右。
6. 再选择合适的时间进行终止, 弃去显色液, 加入终止液即可。最后可进行信号收集保存。

注意事项:

1. 银染主要出现在 PAGE 胶的表面，使用薄胶（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，所以全程中都应带手套操作。
6. PAGE 凝胶背景呈均一的黑色多是水中的杂质引起的，所以溶液的配制应使用电导率小于 1 μS 的去离子水。
7. 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。
8. 较深的银染背景多是丙烯酰胺中的杂质所致。
9. PAGE 胶中的甘油、尿素、甘氨酸、Triton X-100 和两性电解质这些物质会干扰银染。
10. 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。
11. 凭借戊二醛预处理可以使各种蛋白质的染色提高 40 倍。
12. 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。
13. 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。
14. 银染容器最理想的是玻璃平皿，其次是搪瓷盘和密胺塑料盘等。
15. 试剂如有沉淀析出，混匀溶解（可加热）后室温使用。