

蛋白快速银染试剂盒说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

产品简介：

蛋白快速银染试剂盒(Protein Fast Silver Stain Kit)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，该试剂盒含有增敏步骤，可明显降低背景。其优点还在于：1、操作简单、快速；2、可用于 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。Protein Fast Silver Stain Kit 与 Protein Silver Stain Kit 相比，前者操作速度更快，但检测灵敏度(0.5~10ng 蛋白/条带)可能略低于后者，尤其是在检测小分子量蛋白质的时候。本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：

产品名称	规格	保存条件	说明书	有效期
蛋白快速银染试剂盒	20T	RT	1 份	6 个月
试剂(A): Silver Stain Sensitizer(500×)	2×1ml	RT	1 份	6 个月
试剂(B): Silver Stain(100×)	10ml	RT 避光	1 份	6 个月
试剂(C): Silver Stain Developer(5×)	2×100ml	RT 避光	1 份	6 个月
试剂(D): Silver Stain Stop Buffer(10×)	100ml	RT	1 份	6 个月

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 8.5×5.5cm、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×)0.1ml 加入到 50ml 去离子水中，混匀，即为 1×Silver Stain Sensitizer，一般应 2h 内用完。室温下用 1× 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×)0.5ml 加入到 50ml 去离子水中，混匀，即得 1×Silver Stain，一般应 2h 内用完。取凝胶入 1×Silver 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(5×)10ml 加入到 40ml 去离子水中，混匀，即为 1×Silver Stain Developer，一般应 30min 内用完。清洗凝胶后，立即置于 1×Silver Stain Developer 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 1×Silver Stain Developer 继续显影。

10、终止：配制银染终止液，即取 Silver Stain Stop Buffer(10×)10ml 加入到 90ml 去离子水中，混匀，即为 1×Silver Stain Stop Buffer。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。

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，长期保存可以制备干胶。

注意事项：

1、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。

2、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。

3、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。

4、试剂(D)呈酸性，有轻微腐蚀性，使用时请作必要防护。

5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。