



蛋白质银染试剂盒

目录号：ZD303-01

试剂盒内容：

试剂盒组成	ZD303-01 (25 次)
增敏液 (100 ×)	30ml
染色液 (100 ×)	30ml
显色缓冲液 I(5 ×)	2 × 250 ml
显色缓冲液 II(200 ×) (4%甲醛)	20 ml
说明书	1 份

低浓度的 4%甲醛溶液仍然有极少的挥发。使用时尽可能在通风橱或窗户处，以便加完后可以通风。

储存条件：

本试剂盒在室温下，可保存 6 个月。

(一) 产品简介：

本试剂盒用于蛋白质凝胶的染色。银染是比考马斯亮蓝染色更灵敏的一种，它是通过银离子 (Ag⁺) 在蛋白质上被还原成金属银形成黑色来指示蛋白区带的。银染可以直接进行也可以在主要的蛋白条带通过考马斯亮蓝染色分辨，而细小的考马斯亮蓝染色检测不到的蛋白带色后进行凝胶银染检测。银染的灵敏度比考马斯亮蓝染色高100倍，可以检测低于1 ng的蛋白质。

本试剂盒可兼容蛋白质质谱分析。

实验注意事项

1. 由于银染非常灵敏，操作时请注意尽量使用高纯度的水，并确保所使用的器皿非常清洁，最好使用洁净的玻璃器皿。操作时必须戴手套，避免皮肤和凝胶直接接触。
2. 需自备乙醇、乙酸及 Milli-Q 级纯水或双蒸水。本实验中用水最好用 Milli-Q 级水或同等质量的纯水，以保证染色效果。
3. 请按试剂瓶外签标识稀释至终浓度后使用。固定液和终止液请按照说明书事先配制。
4. 说明中各种溶液的使用量适用于大小为 8×10cm 厚度为 0.75-1mm 的凝胶。对于更大的凝胶，各种溶液的使用量需按凝胶面积的比例放大，对于更厚的凝胶，作用时间需按照厚度的比例适当延长。
5. 本说明书所指的室温为 20-25℃，操作温度较低时由于溶液的扩散能力下降，各步骤需适当延长时间。银染显色液 I (5×) 在低温环境下可能会出现沉淀，可在 30-37℃水浴中溶解，并充分混匀后使用。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

(二) 操作步骤：

1. 固定：

电泳结束后，取凝胶放入约 100ml 固定液中，在摇床上室温摇动 20 分钟，摇动速度为 60-70rpm。固定 40 分钟以上甚至过夜可以进一步降低背景。

固定液的配制：依次加入 50ml 乙醇、10ml 乙酸和 40ml Milli-Q 级纯水或双蒸水，混匀后即成 100ml 固定液。

2. 30%乙醇洗涤：

弃固定液，加入 100ml 30%乙醇，在摇床上室温摇动 10 分钟，摇动速度 60-70rpm。

30%乙醇的配制：70ml Milli-Q 级纯水或双蒸水中加入 30ml 乙醇，混匀后即成 100ml 30%乙醇。

3. 水洗涤：

弃 30%乙醇，加入 200ml Milli-Q 级纯水或双蒸水，在摇床上室温摇动 10 分钟，摇动速度为 60-70rpm。

4. 增敏：

弃水，加入 100ml 银染增敏液(1×)，在摇床上室温摇动 2 分钟，摇动速度为 60-70rpm。

增敏液(1×)的配制：99ml Milli-Q 级纯水或双蒸水中加入 1ml 银染增敏液(100×)，混匀后即为银染增敏液(1×)。银染增敏液(1×)配制后需在 2 小时内使用。

5. 水洗涤(共 2 次)：

弃原有溶液，加入 200ml Milli-Q 级纯水或双蒸水，在摇床上室温摇动 1 分钟，摇动速度为 60-70rpm。弃水，再加入 200ml Milli-Q 级纯水或双蒸水，在摇床上室温摇动 1 分钟，摇动速度为 60-70rpm。

6. 银染：

弃水，加入 100ml 染色液(1×)，在摇床上室温摇动 10 分钟，摇动速度为 60-70rpm。

染色液(1×)的配制：99ml Milli-Q 级纯水或双蒸水中加入 1ml 染色液(100×)，再加入 0.4ml 显色缓冲液 II(200×)混匀后即为染色液(1×)。染色液(1×)配制后需在 2 小时内使用。

7. 水洗涤：

弃原有溶液，加入 100ml Milli-Q 级纯水或双蒸水，在摇床上室温摇动 1-1.5 分钟，摇动速度为 60-70rpm。

注意：水洗涤的时间不能超过 1.5 分钟。

8. 显色：

弃水，加入 100ml 显色液，在摇床上室温摇动 3-10 分钟，直至出现比较理想的预期蛋白条带，摇动速度为 60-70rpm。

显色液的配制：80ml Milli-Q 级纯水或双蒸水中加入 20ml 显色缓冲液 I(5×)，再加入 0.4ml 显色缓冲液 II(200×)，混匀后即为显色液。显色液配制后需在 20 分钟内使用。

9. 终止：

弃显色液，加入 100ml 终止液(1×)，在摇床上室温摇动 10 分钟，摇动速度为 60-70rpm。终止时有气体产生属正常现象，产生的气体为二氧化碳。

终止液(1×)的配制：95ml Milli-Q 级纯水或双蒸水中加入 5ml 乙酸，混匀后即为终止液(1×)。银染终止液(1×)配制后宜当天使用。

10. 水洗涤：

弃银染终止液，加入 100ml Milli-Q 级纯水或双蒸水，在摇床上室温摇动 2-5 分钟，摇动速度为 60-70rpm。

11. 保存：

可用 1%的乙酸溶液浸泡，4℃保存。