蛋白银染试剂盒 B2080

**产品简介**

银染是灵敏度较高的一种染色方法，其基本原理是通过被还原阴离子在蛋白质上形成黑色沉淀来显示蛋白条带 。银染的灵敏度比传统的考马斯亮蓝染色法高100 倍，可检测低于0.5 ng的蛋白质 。正是由于其较高的灵敏度，银染广泛应用于 2D 凝胶分析及极低蛋白含量测定的垂直 PAGE 凝胶中，是对凝胶中低丰度蛋白检测的常用方法 。本产品可用于 SDS-PAGE 或 PAGE 聚丙烯酰胺凝胶中的蛋白质检测，灵敏度高，操作方便快捷，背景几乎无色，可在 90 min内完成1块凝胶的银染 。本试剂盒可以染 25 块同规格的凝胶。

**储存与运输**

室温运输；增敏剂常温保存，其余试剂 2 -8℃保存，12 个月有效期。

**组成**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Component** | **E2080-25T** | **保存条件** |
| 增敏剂 | 2 mL | 常温（避光） |
| 10×敏化液 | 50 mL | 4℃ |
| 10×银染液 | 50 mL | 4℃（避光） |
| 4 ×显影液 | 125 mL | 4℃ |

**操作**

1. 固定：按下表配制固定液。将凝胶置于洁净的染缸中，超纯水清洗三次，加入固定液 20 mL 覆盖凝胶， 水平摇床慢摇（60-70 rpm）孵育 30 min ，为防止醋酸和乙醇挥发，请使用保鲜膜将染缸密封 。延长 固定时间可进一步降低背景。

|  |  |
| --- | --- |
| **固定液配制** | |
| **Component** | **Volume（ 20 mL）** |
| 超纯水 | 10 mL |
| 无水乙醇 | 8 mL |
| 冰醋酸 | 2 mL |
| 增敏剂 | 40 uL |

2.洗涤：倒掉固定液，更换超纯水覆盖凝胶，水平摇床快摇清洗三次，每次 10 min。

3.增敏：按下表配制敏化工作液 。加入敏化工作液覆盖凝胶，水平摇床慢摇孵育 1 min。

|  |  |
| --- | --- |
| **敏化工作液配制** | |
| **Component** | **Volume** |
| **超纯水** | **18 mL** |
| **10×敏化液** | **2 mL** |

4.洗涤：倒掉敏化工作液，更换超纯水，摇床快摇清洗三次，每次 20 s。

5.银染：按照下表配制银染工作液。加入银染工作液覆盖凝胶，摇床慢摇孵育 20 min；银染工作液需现 配现用，尽量在 2 h 内使用。

|  |  |
| --- | --- |
| **银染工作液配制** | |
| **Component** | **Volume** |
| 超纯水 | 18 mL |
| 10×银染液 | 2 mL |
| 增敏剂 | 16 μL |

6.水洗涤：弃去染液，更换超纯水，摇床快摇清洗三次，每次 20 s。

7.显色：按下表配制显影工作液 。加入显影工作液覆盖凝胶，摇床慢摇孵育 1 -5 min ，直至出现理想的 目的蛋白条带。

|  |  |
| --- | --- |
| **显影工作液配制** | |
| **Component** | **Volume** |
| 超纯水 | 15 mL |
| 4 ×显影液 | 5 mL |
| 增敏剂 | 10 μL |

8.终止：按照下表配制显影终止液 。加入显影终止液覆盖凝胶，摇床快摇孵育 2 min；过程中有气体产生属正常现象，产生的气体为 CO2 。然后弃去终止液， 以超纯水清洗凝胶 2 -5 min。

|  |  |
| --- | --- |
| **显影终止液配制** | |
| **Component** | **Volume** |
| 超纯水 | 19 mL |
| 冰醋酸 | 1 mL |

1. 保存：清洗后的凝胶置于胶片观察灯或白色底板上即可用于观察及拍照。染色后的凝胶可置于超纯水或1%醋酸溶液中保存。或采用适当的方式制成干胶。

**注意事项:**

1. 为防止杂质的干扰，操作时需使用高纯度的水（电阻值大于 16 MΩ/cm）和洁净的玻璃器皿或塑料容器，不能使用金属容器。

2. 全程实验请做好防护措施，实验中超纯水 、无水乙醇 、冰醋酸需自备。

3. 操作过程中请勿直接接触或按压胶体，且染色用的染缸不能使用金属制品，玻璃或者塑料容器为最佳。

4. 增敏剂室温避光保存 ，请勿 4℃保存 ，否则会失效。

5. 所有工作液需现配现用。试剂开瓶使用后需拧紧瓶盖，防止溶液挥发和与空气中的物质发生化学反应， 影响染色效果。

6. 显影液长时间 4℃保存有晶体析出（正常现象），可 37℃温育至完全溶解再行使用。

7. 当凝胶较厚或者操作温度较低时，可适当延长显色时间。

8. 每个步骤的染色时间、洗涤时间、显色及终止的时间要控制好，否则胶背景变深，不易观察目的条带。