

快速蛋白高灵敏度染色试剂盒

Fast Protein Gel Staining Kit

产品编号	产品名称	规格
PT0027L	快速蛋白高灵敏度染色试剂盒	25T

产品简介:

总快速蛋白高灵敏度染色试剂盒(Fast Protein Gel Staining Kit)是一种快速简单、可用于 SDS-PAGE 或非变性 PAGE 等蛋白分离后染色的试剂盒。本试剂盒也可以用于 2D 凝胶的染色,并且染色后兼容后续的质谱检测。本试剂盒只需约 90 分钟内可以完成凝胶的染色。对于 BSA 蛋白,检测灵敏度可以达到 0.3ng 蛋白。

本试剂盒可足够用于 25 块常规的 8×10cm 凝胶的染色。

说明书后附有实验记录表格,方便记录实验步骤。

该试剂盒仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求
试剂 1: 增敏液(100×)	26mL	常温
试剂 2: 染色溶液(100×)	26mL	常温 避光
试剂 3: 基本显色液(10×)	250mL	常温
试剂 4: 显色加速液(2000×)	1.5mL	常温 避光
试剂 5: 终止液(20×)	125mL	常温

使用方法(仅供参考):

一、固定步骤:

1、漂洗:电泳结束后,凝胶中加入 100mL 双蒸水中漂洗 5 分钟,重复漂洗 1 次,去除凝胶表面的电泳缓冲液。

2、固定:取漂洗后的凝胶放入约 100mL 固定液中,在摇床上常温摇动 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:配制量 100mL

无水乙醇	冰乙酸	超纯水
50mL	10mL	40mL

3、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

速度为 60-70rpm。

30%乙醇的配制: 在 70mL MilliQ 级纯水或双蒸水中加入 30mL 无水乙醇, 混匀后即成 100mL 30%乙醇。

4、水漂洗: 弃 30%乙醇, 加入 100mL MilliQ 级纯水或双蒸水, 在摇床上常温摇动 5 分钟, 摇动速度为 60-70rpm; 重复漂洗一次。

二、增敏步骤:

1、弃水, 加入 100mL 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 MilliQ 级纯水或双蒸水中加入 1mL 增敏液(100×), 混匀后即为增敏液(1×)。增敏液(1×)配制后需在 2 小时内使用。

2、水漂洗(共 2 次): 弃原有溶液, 加入 200mL MilliQ 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。重复此步骤一次。

三、染色步骤:

1、弃水, 加入 100mL 染色溶液(1×), 在摇床上室温摇动 10 分钟, 摇动速度为 60-70rpm。染色过程中, 凝胶会呈微微黄色。

染色溶液(1×)的配制: 99mL MilliQ 级纯水或双蒸水中加入 1mL 染色溶液(100×), 混匀后即为染色溶液(1×)。染色溶液(1×)配制后需在 2 小时内使用。

2、水洗涤: 弃原有溶液, 加入 100mL MilliQ 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。

四、显色步骤:

弃水, 加入 100mL 显色液, 在摇床上室温摇动 3-7 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: 配制量 100mL

基本显色液(10×)	超纯水	显色加速液(2000×)
10mL	90mL	50μL

注意: 显色加速液(2000×)有刺激性气味, 建议在通风橱内操作; 显色液配制后需在 20 分钟内使用。

五、终止步骤:

1、漂洗: 弃显色液, 加入 100mL 双蒸水在摇床上常温摇动 2 分钟, 漂洗掉凝胶上残留的显色液。

2、终止染色: 弃显色液, 加入 100mL 终止液(1×), 在摇床上常温摇动 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 MilliQ 级纯水或双蒸水中加入 5mL 终止液(20×), 混匀后即为终止液(1×)。终止液(1×)配制后应当天使用。

3、水洗涤: 弃终止液, 加入 100mL MilliQ 级纯水或双蒸水, 在摇床上室温摇动 5 分钟,

摇动速度为 60-70rpm。

六、保存：

可在 MilliQ 级纯水或双蒸水中保存，或采用适当的方式制备成干胶。

注意事项：

- 1、由于该方法染色非常灵敏，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、冰醋酸及 MilliQ 级纯水或双蒸水。
- 3、上述使用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 10-20 分钟。
- 4、本说明书所指的常温温为 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。
- 5、基本显色液(10×)和终止液(20×)在低温环境下可能会出现沉淀或结晶，可在 37℃水浴中溶解，并充分混匀后使用。
- 6、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 7、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。
- 8、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

常见问题：

1、背景太深：

- (1)显色时间过长。通常显色反应会在 10 分钟内结束，显色反应时间过长会导致背景很深。
- (2)洗涤不充分。洗涤时间过短，或洗涤液加入的量不足，或者容器过于狭小导致摇动时溶液不易充分混合，或摇动速度过慢，导致混匀不充分。请按照说明书的建议确保各种溶液的用量和作用时间，摇床的推荐速度为 60-70rpm。
- (3)凝胶中原有的缓冲液等未在固定步骤中去除干净。一方面需确保固定的时间和固定液的用量，另一方面对于不是最常用的 Bis-Tris 系统的凝胶需要更长的固定时间以充分去除凝胶中的原有缓冲成分，以降低背景。
- (4)水的纯度太低。需使用大于 1 MΩ·cm 的高纯度水。

2、蛋白条带非常浅：

- (1)蛋白的半胱氨酸(Cysteine)残基的含量特别低或几乎没有。半胱氨酸残基的存在对于染色非常重要，半胱氨酸残基的含量过低会导致检测灵敏度下降。
 - (2)染色后水洗涤时间过长。在染色溶液染色时需严格控制水洗涤的时间，水洗涤的时间不
-

能超过 1.5 分钟，否则会导致过多的显色离子被洗去，导致检测灵敏度下降。

(3)上样量不足。本试剂盒检测 BSA 的灵敏度可以达到 0.3ng，对于不同的蛋白检测灵敏度可能不同。对于一些蛋白可能需要大于 1ng 的蛋白量才能被检测到。

(4)固定步骤后的洗涤不够充分。导致少量乙酸残留，影响后续检测。确保 30%乙醇洗涤和水洗涤的用量和时间，可以适当延长洗涤时间。

3、凝胶上出现小点或其它非蛋白的痕迹：

(1)凝胶没有充分被溶液浸没。请注意选择大小合适的容器，并加入足量的各种溶液，同时需保持适当的混匀速度确保凝胶可以被溶液浸没。

(2)用于染色的容器没有充分洗涤干净。容器需先用洗涤剂充分洗涤，随后用自来水充分冲洗，最后用高纯度水再洗涤数次。该容器最好能专用于染色，并注意避免各种可能的蛋白污染。

(3)指纹或其它压痕。请注意戴手套操作，切勿直接接触皮肤。操作时请注意尽量勿挤压、折叠或摩擦凝胶。

(4)有金属物质接触凝胶。金属物质例如金属镊子等接触凝胶会出现非特异性痕迹。

4、在 60-70 kD 处出现一片模糊的蛋白染色背景：

皮肤上脱落的角蛋白(keratin)污染了蛋白样品。一方面需注意戴手套操作，另一方面需注意盛放蛋白样品的容器盖子尽量不要敞开，甚至在取放蛋白样品时在超净台内进行以避免可能的角蛋白污染。

5、在凝胶的顶端处出现黄色背景：

(1)样品使用了含有 DTT 的上样缓冲液。换用含有其它还原试剂如 β -巯基乙醇的上样缓冲液。

(2)采用 Tris-Glycine-SDS 电泳体系。Tris-Glycine-SDS 电泳体系中的 Glycine 会导致背景凝胶的顶端出现轻微黄色背景。

有效期：常温保存，12 个月有效。

相关产品：

产品编号	产品名称
CS0201	细胞线粒体分离试剂盒
DC0032	Masson 三色染色液
PS0013	RIPA 裂解液(强)
TC1167	尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)
TO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)

实验记录表格：

实验日期：

		约90 分钟	标记√	起始时间
一 固定步骤				
	水漂洗	2× 5min		
	固定	20min		
	乙醇漂洗	10min		
	水漂洗	2× 5min		
二 增敏步骤				
	增敏	2min		
	水漂洗	2× 1min		
三 染色步骤				
	染色	10min		
	水漂洗	< 1.5 min		
四 显色步骤				
	显色	3-7min		
五 终止步骤				
	水漂洗	2min		
	终止	10min		
	水漂洗	5min		
六 保存				