



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
订货热线: 400-168-3301或800-8283301
订货e-mail: order@beyotime.com
技术咨询: info@beyotime.com
网址: http://www.beyotime.com

快速银染试剂盒

产品编号	产品名称	包装
P0017S	快速银染试剂盒	25次

产品简介:

- 快速银染试剂盒(Fast Silver Stain Kit)是一种快速简单、可用于SDS-PAGE或非变性PAGE等蛋白银染的试剂盒。
- 本试剂盒也可以用于2D凝胶的银染, 并且染色后和后续的质谱检测兼容。
- 本试剂盒只需一小时左右即可观察到蛋白条带, 90分钟内可以完成2块凝胶的银染。
- 对于BSA蛋白, 检测灵敏度可以达到0.3ng蛋白(参考图1)。

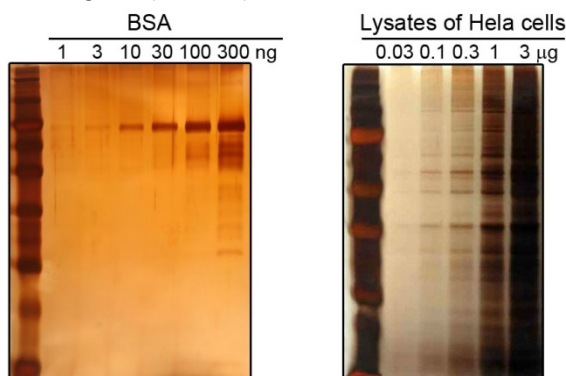


图1. 本试剂盒PAGE胶银染效果图。BSA(左图)和Hela细胞裂解液(右图)在SDS-PAGE后使用本试剂盒进行银染的效果图。最左侧泳道均为蛋白分子量标准。左图为获得较高的检测灵敏度, 显色时间较长, 已经产生了橙黄色的背景; 右图显色时间较短, 仅出现浅土黄色的背景。

- 无需使用有毒的甲醇。
- 本试剂盒可足够用于25块常规的8×10cm凝胶的银染。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
P0017S-1	银染增敏液(100X)	26ml
P0017S-2	银溶液(100X)	26ml
P0017S-3	银染基本显色液(5X)	125ml×4
P0017S-4	银染显色加速液(2000X)	1.5ml
P0017S-5	银染终止液(20X)	125ml
—	说明书	1份

保存条件:

室温保存, 一年有效。银溶液(100X)和银染显色加速液(2000X)需避光保存。

注意事项:

- 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。
- 需自备乙醇、乙酸及Milli-Q级纯水或双蒸水。
- 下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。
- 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。
- 银染基本显色液(5X)在低温环境下可能会出现少量沉淀, 可在30-50℃水浴中溶解, 并充分混匀后使用。至少后续稀释至1X后须确保完全溶解。
- 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。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

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，摇动速度为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。如果本步骤用水洗涤更长时间，对降低染色的背景略有帮助。

4. 增敏：

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

银染增敏液(1X)的配制：99ml Milli-Q级纯水或双蒸水中加入1ml银染增敏液(100X)，混匀后即为银染增敏液(1X)。银染增敏液(1X)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银溶液(1X)，在摇床上室温摇动10分钟，摇动速度为60-70rpm。

银溶液(1X)的配制：99ml Milli-Q级纯水或双蒸水中加入1ml银溶液(100X)，混匀后即为银溶液(1X)。银溶液(1X)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银染显色液，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。

银染显色液的配制：80ml Milli-Q级纯水或双蒸水中加入20ml银染基本显色液(5X)，再加入0.05ml银染显色加速液(2000X)，混匀后即为银染显色液。银染显色液配制后需在20分钟内使用。

9. 终止：

弃银染显色液，加入100ml银染终止液(1X)，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。

银染终止液(1X)的配制：95ml Milli-Q级纯水或双蒸水中加入5ml银染终止液(20X)，混匀后即为银染终止液(1X)。银染终止液(1X)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：

可在Milli-Q级纯水或双蒸水中保存。或采用适当的方式制备成干胶。

常见问题：

1. 背景太深：

a. 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。

b. 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。

c. 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缓冲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。

d. 水的纯度太低。需使用大于16 MΩ•cm的高纯度水。

2. 蛋白条带非常浅：

a. 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银染非常重要，半胱氨酸残基的含量过低会导致检测灵敏度下降。

b. 银染后水洗涤时间过长。在银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，否则会导致过多的银离子被洗去，导致检测灵敏度下降。

c. 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。

d. 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：

- a. 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。
 - b. 用于银染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银染，并注意避免各种可能的蛋白污染。为确保充分洗涤干净，对于耐硝酸的容器，例如玻璃容器，可以在上述洗涤剂及自来水洗涤后用50%硝酸洗涤，随后用高纯度水充分洗涤。
 - c. 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。
 - d. 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：
 - a. 样品中DTT浓度很高。采用其它适当的还原试剂，或者在许可范围内适当减少DTT的用量。
 - b. 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。换用Tris-Tricine-SDS电泳体系则可显著消除此黄色背景。
 6. 银在染色器皿中出现沉淀：
染色器皿中可能含有残余的洗涤剂或上次银染时的残余试剂。需确保把染色器皿洗涤干净。

使用本产品的文献：

1. Xiang D, Zhang J, Chen Y, Guo Y, Schalow A, Zhang Z, Hu X, Yu H, Zhao M, Zhu S, Lu H, Wu M, Yu Y, Moldenhauer A, Han W. Expressions and purification of a mature form of recombinant human Chemerin in *Escherichia coli*. *Protein Expr Purif*. 2010 Feb;69(2):153-8.
2. Zhao M, Wu M, Guo L, Jiang J, Huang W, Lin X, Zhang Z, Xiang D, Lu H, Zhu S, Yu Y, Moldenhauer A, Han W. Expression, purification, and characterization of a novel soluble form of human Delta-like-1. *Appl Biochem Biotechnol*. 2010 Mar;160(5):1415-27.
3. Cheng B, Liu X, Gong H, Huang L, Chen H, Zhang X, Li C, Yang M, Ma B, Jiao L, Zheng L, Huang K. Coffee components inhibit amyloid formation of human islet amyloid polypeptide in vitro: possible link between coffee consumption and diabetes mellitus. *J Agric Food Chem*. 2011 Dec 28;59(24):13147-55.
4. Pan PW, Zhang Q, Bai F, Hou J, Bai G. Profiling and comparative analysis of glycoproteins in Hs578BST and Hs578T and investigation of prolyl 4-hydroxylase alpha polypeptide II expression and influence in breast cancer cells. *Biochemistry (Mosc)*. 2012 May;77(5):539-45.
5. Cheng B, Gong H, Li X, Sun Y, Zhang X, Chen H, Liu X, Zheng L, Huang K. Silibinin inhibits the toxic aggregation of human islet amyloid polypeptide. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012 Mar 16;419(3):495-9.
6. Li Y, Gong H, Sun Y, Yan J, Cheng B, Zhang X, Huang J, Yu M, Guo Y, Zheng L, Huang K. Dissecting the role of disulfide bonds on the amyloid formation of insulin. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012 Jun 29;423(2):373-8.
7. Zhao L, Tong P, Chen YX, Hu ZW, Wang K, Zhang YN, Zhao DS, Cai LF, Liu KL, Zhao YF, Li YM. A multi-functional peptide as an HIV-1 entry inhibitor based on self-concentration, recognition, and covalent attachment. *Org Biomol Chem*. 2012 Aug 28;10(32):6512-20.
8. Du G, Ye L, Zhang G, Dong Q, Liu K, Tian J. Human IL18-IL2 fusion protein as a potential antitumor reagent by enhancing NK cell cytotoxicity and IFN- γ production. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2012 Oct;138(10):1727-36.
9. Cheng B, Gong H, Li X, Sun Y, Chen H, Zhang X, Wu Q, Zheng L, Huang K. Salvianolic acid B inhibits the amyloid formation of human islet amyloid polypeptide and protects pancreatic beta-cells against cytotoxicity. *Proteins*. 2013 Apr;81(4):613-21.
10. Jiao L, Zhang X, Huang L, Gong H, Cheng B, Sun Y, Li Y, Liu Q, Zheng L, Huang K. Proanthocyanidins are the major anti-diabetic components of cinnamon water extract. *Food Chem Toxicol*. 2013 Jun;56:398-405.
11. Lu A, Li X, Hillyer JF, Beerntsen BT, Söderhäll K, Ling E. Recombinant *Drosophila* phenoloxidase 1 is sequentially cleaved by α -chymotrypsin during in vitro activation. *Biochimie*. 2014 Jul;102:154-65.
12. Li J, Hu Q, Seswita-Zilda D. Purification and characterization of a thermostable λ -carrageenase from a hot spring bacterium, *Bacillus* sp. *Biotechnol Lett*. 2014 Aug;36(8):1669-74.
13. Kong L, Lu A, Guan J, Yang B, Li M, Hillyer JF, Ramarao N, Söderhäll K, Liu C, Ling E. Thermolysin damages animal life through degradation of plasma proteins enhanced by rapid cleavage of serpins and activation of proteases. *Arch Insect Biochem Physiol*. 2015 Jan;88(1):64-84.
14. Liu Q, Zheng X, Zhang C, Shao X, Zhang X, Zhang Q, Jiang X. Conjugating influenza A (H1N1) antigen to n-trimethylaminoethylmethacrylate chitosan nanoparticles improves the immunogenicity of the antigen after nasal administration. *J Med Virol*. 2015 Nov;87(11):1807-15.
15. Wang L, Fu S, Cao L, Lei W, Cao Y, Song J, Tang Q, Zhang H, Feng Y, Yang W, Liang G. Isolation and identification of a natural reassortant mammalian orthoreovirus from least horseshoe bat in China. *PLoS One*. 2015 Mar 17;10(3):e0118598.
16. Huang L, Yang X, Peng A, Wang H, Lei X, Zheng L, Huang K. Inhibitory effect of leonurine on the formation of advanced glycation end products. *Food Funct*. 2015 Feb;6(2):584-9.
17. Li L, Li X, The E, Wang LJ, Yuan TY, Wang SY, Feng J, Wang J, Liu Y, Wu YH, Ma XE, Ge J, Cui YY, Jiang XY. Low expression of lncRNA-GAS5 is implicated in human primary varicose great saphenous veins. *PLoS One*. 2015 Mar 25;10(3):e0120550.
18. Zeng KW, Liao LX, Lv HN, Song FJ, Yu Q, Dong X, Li J, Jiang Y, Tu PF. Natural small molecule FMHM inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response by promoting TRAF6 degradation via K48-linked polyubiquitination. *Sci Rep*. 2015 Oct 1;5:14715.
19. Kong L, Lu A, Guan J, Yang B, Li M, Hillyer JF, Ramarao N, Söderhäll K, Liu C, Ling E. Thermolysin damages animal life through degradation of plasma proteins enhanced by rapid cleavage of serpins and activation of proteases. *Arch Insect Biochem Physiol*. 2015 Jan;88(1):64-84.
20. Wang YJ, Ren QG, Gong WG, Wu D, Tang X, Li XL, Wu FF, Bai F, Xu L, Zhang ZJ. Escitalopram attenuates β -amyloid-induced tau hyperphosphorylation in primary hippocampal neurons through the 5-HT1A receptor mediated Akt/GSK-3 β pathway. *Oncotarget*. 2016 Mar 22;7(12):13328-39.
21. Yang C, Fu R, Zhuang Z, Wang S. Studies on the biological functions of CPS1 in AFB1 induced hepatocarcinogenesis. *Gene*. 2016 Oct 10;591(1):255-61.
22. Wang X, Zhang W, Tang J, Huang R, Li J, Xu D, Xie Y, Jiang R, Deng L, Zhang X, Chai Y, Qin X, Sun B. LINC01225 promotes occurrence and metastasis of hepatocellular carcinoma in an epidermal growth factor receptor-dependent pathway. *Cell Death Dis*. 2016 Mar 3;7:e2130.
23. Huang R, Yu Y, Zong X, Li X, Ma L, Zheng Q. Monomethyltransferase SETD8 regulates breast cancer metabolism via stabilizing hypoxia-inducible factor 1 α . *Cancer Lett*. 2017 Jan 13;390:1-10.