

蛋白胶银染

蛋白胶银染是蛋白质电泳检测的手段之一,相较于考马斯亮蓝染色具有更高的灵敏度,常用于质谱样品的定量检测。本 Protocol 来自于聚合美的银染试剂盒

M5 HiPer Protein Silver Stain Kit 蛋白银染试剂盒

注意事项:

- 提前配置银染所需要的试剂
 - 30 mL 固定液(超纯水: 乙醇: 冰醋酸 = 6:3:1 = 18 mL + 9 mL + 3 mL)
 - 30 mL 洗脱液(10% 乙醇: 3 mL 无水乙醇 + 27 mL 超纯水)
 - 30 mL 终止液(5% 冰醋酸: 1.5 mL 冰醋酸 + 28.5 mL 超纯水)
- 操作时使用去离子水和洁净的玻璃或塑料器皿, **带一次性手套操作**
- 整个银染过程需在摇床上进行,摇床转速调到 30 刻度
- 银染时蛋白 Marker 上样 0.5 μ L 就足够了

操作步骤:

- 水洗:** 电泳完成后,用超纯水洗胶 2 次,每次洗涤 5 min
- 固定:** 用 15 mL 固定液固定凝胶 2 次,每次固定 15 min
- 洗脱:** 用洗脱液洗胶 2 次,每次洗涤 5 min
- 水洗:** 用超纯水洗胶 2 次,每次洗涤 5 min
- 增敏:** 将上一步洗好的凝胶置于银染增敏工作液中,室温下准确孵育 1 min 后用超纯水洗胶 3 次,每次洗涤 20 s
银染增敏工作液: 取 30 μ l Silver Stain Sensitizer(500x)加入到 15 ml 超纯水中,混匀
- 银染:** 弃去超纯水,将凝胶置于银染工作液中孵育 30 min
银染工作液: 取 15 mL Silver Stain 加入 30 μ L Silver Stain Enhancer,混匀
- 水洗:** 用超纯水快速洗胶 2 次,每次洗涤准确控制为 20 s
- 显影:** 立即将洗好的凝胶浸没在显影液中,室温孵育 2-3 min,直至蛋白条带显示清晰。
显影液: 取 15 ml Silver Stain Developer 加入 18 μ l Silver Stain Enhancer 混匀
 - ! 显影 30 s 内,蛋白条带开始显现,继续显影至 2-3 min
 - ! 若蛋白条带显色较浅,可适当延长显影时间至 5 min
- 终止:** 用终止液洗去凝胶上的显影液后,将凝胶浸泡在新的终止液中反应 10 min

修订日期 2024-04-23