

## Fast Protein Gel Staining Kit

### 快速蛋白高灵敏度染色试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL620A	快速蛋白高灵敏度染色试剂盒	25 T

#### 产品简介:

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。

#### 产品组份:

产品编号	产品名称	规格	贮存
BL620A-1	增敏液(100×)	26 ml	常温
BL620A-2	染色溶液(100×)	26 ml	常温，避光
BL620A-3	基本显色液(10×)	250 ml	4°C
BL620A-4	显色加速液(2000×)	1.5 ml	常温，避光
BL620A-5	终止液(20×)	125 ml	常温

#### 使用方法:

##### 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	冰醋酸	超纯水
50 ml	10 ml	40 ml

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：

70ml MilliQ 级纯水或双蒸水中加入 30ml 乙醇，混匀后即成 100ml 30%乙醇。

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

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



99 ml MilliQ 级纯水或双蒸水中加入 1ml 增敏液(100×), 混匀后即即为增敏液(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 100 ml

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

**注: 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为 20-25°C, 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×)在低温环境下可能会出现沉淀, 可在 37°C 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

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



放于普通住宅内。

7、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 16 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。

#### 保存条件：

常温保存，开封后一年有效。



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	20 min		
	乙醇漂洗	10 min		
	水漂洗	2 × 5min		
二 增敏步骤				
	增敏	2 min		
	水漂洗	2 × 1 min		
三 染色步骤				
	染色	10 min		
	水漂洗	< 1.5 min		
四 显色步骤				
	显色	3-7 min		
五 终止步骤				
	水漂洗	2min		
	终止	10 min		
	水漂洗	5 min		
六 保存				

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。

