天净沙系列

CAT#:220603

常温运输和保存，有低温成分

糖蛋白染色试剂盒(PAGE 胶专用)

Glycoprotein Staining Kit

使用手册 V1.02

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品为在 PAGE 凝胶或蛋白免疫印记硝酸纤维素膜上检测糖蛋白的试剂盒。它具有如下特点：

1. 一站式，用户不要单独配制所需成分，简单快捷。
2. 提供一种阳性对照蛋白及一种阴性对照蛋白，便于分析问题。
3. 专一性强，通过共价修饰方式检测糖基，不检测蛋白部分。
4. 快捷，只需不到 2 小时，而其他的染色方法需要 4-5 小时。
5. 染色后的糖蛋白为品红色条带，背景为浅粉色或者无色
6. 灵敏度高，理论上可以达到微克级别，但实际应用时灵敏度跟靶蛋白的糖基化程度相关。
7. 可以用于 SDS-PAGE 和 2D 电泳的凝胶检测，也可以用于琼脂糖凝胶电泳的检测（但背景较高），还可以用于硝酸纤维素印迹膜的检测。
8. 本产品足够染色 10 张 mini-PAGE 胶或 20 张 8×8 cm 的蛋白印迹纤维素膜。
9. 本产品只可用于科研。

规格及成分

本产品使用大扁盒包装

成分	编号	规格	包装
氧化试剂	220603a	2.5 g	2 mL 棕色管
还原试剂	220603c	1.25 g	2 mL 本盖管
糖蛋白染色试剂	220603b	250 mL	250 mL 棕色瓶
阳性对照（卵白蛋白）	CAS:9006-59-1	1 mg	0.5 mL 黄盖管
阴性对照（大豆胰蛋白酶抑制剂）	220603d	1 mg	0.5 mL 橙盖管
250 mL 本色塑料瓶（空）	无	2 个	无
使用手册	220603sc	1 份	1 份

运输及保存

常温运输和保存，阳性对照和阴性对照干粉需要 4℃或更低温度长期保存，有效期一年。注：糖蛋白染色试剂的有效期只有半年（从出厂时间开始计算）。

自备物品

甲醇、冰醋酸、超纯水、非还原 SDS-PAGE 上样缓冲液等。

使用方法

实验前准备

1. 配制 3%醋酸溶液：将 30 mL 自备的冰醋酸与 970 mL 超纯水混匀，室温保存备用。
2. 配制 50%甲醇溶液：将 250 mL 自备的甲醇与 250 mL 超纯水混匀，室温保存备用。
3. 配制氧化试剂溶液：将本试剂盒提供的氧化试剂干粉转移到本试剂盒提供的 250 mL 空本色塑料瓶中，然后加入 250 mL 的 3%醋酸溶液（第 1 步配制），充分混匀溶解后

得到氧化试剂溶液，室温保存备用。

4. 配制还原试剂溶液：将本试剂盒提供的还原试剂干粉转移到本试剂盒提供的 250 mL 空本色塑料瓶中，然后加入 250 mL 的超纯水，充分混匀溶解后得到还原试剂溶液，室温保存备用。
5. 配制阳性对照（卵白蛋白）溶液：向装有 1 mg 卵白蛋白固体的管中加入 1 mL 1×非还原 SDS-PAGE 上样缓冲液（自备），所得卵白蛋白溶液的浓度为 1mg/mL，然后分装成 100 μL/管共 10 管，留下一管当天使用，其余的放-20℃长期保存。对于 80 mm×80 mm 的凝胶来说，每条泳道加 10 μL 的阳性对照溶液即可。
6. 配制阴性对照（大豆胰蛋白酶抑制剂）溶液：向装有 1 mg 大豆胰蛋白酶抑制剂干粉的管中加入 1×非还原 SDS-PAGE 上样缓冲液（自备），所得大豆胰蛋白酶抑制剂溶液的浓度为 1 mg/mL，然后分装成 100 μL/管共 10 管，留下一管当天使用，其余的放-20℃长期保存。对于 80 mm×80 mm 的凝胶来说，每个泳道加 10 μL 的阴性对照溶液即可。
7. 样品稀释：用非还原 SDS-PAGE 上样缓冲液将蛋白样品浓度稀释为 1 mg/mL，非还原 SDS-PAGE 上样缓冲液终浓度为 1×。对于 80 mm×80 mm 的凝胶来说，每个泳道加 10 μL 的样品。

凝胶染色的操作步骤（注意:请在通风橱中进行以下操作）

8. 取出电泳后的 SDS-PAGE 凝胶，加入到装有 100 mL 50%甲醇溶液的器皿中，完全浸泡 30 分钟后，倒出甲醇溶液。
9. 用 100 mL 3%醋酸溶液洗涤胶块两次，每次轻轻振荡 10 分钟。
10. 将 PAGE 胶块转移到装有 25 mL 氧化试剂的器皿中，轻轻振荡 15 分钟。
11. 用 100 mL 3%醋酸溶液洗涤胶块 3 次，每次轻轻振荡 5 分钟。
12. 将胶块转移到装有 25 mL 糖蛋白染色试剂的器皿中，轻轻振荡 15 分钟。（注：若染色试剂中有晶体析出，只需取上清液即可，不要加热溶解晶体。）
13. 将胶块转移到装有 25 mL 还原试剂的器皿中，轻轻振荡 5 分钟。
14. 用 3%醋酸溶液洗涤胶块，然后用超纯水洗涤至显色，糖蛋白将显现为品红条带。胶块保存在 3%醋酸溶液中。

硝化纤维素膜染色的操作步骤（注意:请在通风橱中进行以下操作）

15. 用 20 mL 3%醋酸溶液洗涤膜两次，每次轻轻振荡 10 分钟。
16. 将膜转移到 10 mL 的氧化试剂中，轻轻振荡 15 分钟。
17. 用 10 mL 3%醋酸溶液洗涤膜 3 次，每次轻轻振荡 5 分钟。

	18. 将膜转移到 10 mL 的糖蛋白染色试剂中，轻轻振荡 15 分钟。注意：若染色试剂中有晶体析出，只需离心取上清液去除晶体即可，不要加热来溶解晶体。 19. 将膜转移到 10 mL 还原试剂中，轻轻振荡 5 分钟。 20. 用 3%醋酸溶液洗涤膜，然后用超纯水洗涤至显色，糖蛋白将显现为品红条带。膜可保存在 3%醋酸溶液中。 21. 检测后如果没有条带，可以用转膜后的 PAGE 胶进行检测，因为糖蛋白（尤其是高度糖基化的蛋白）转膜效果比较差。
关联产品	超快蛋白银染试剂盒

20231110ysm