



一般研究用試薬

2D- 銀染色試薬・II

2D-Silver Stain Reagent II

Cat. No. 423413

2020年5月13作成

www.cosmobio.co.jp

はじめに

ポリアクリルアミドゲル電気泳動法によって泳動されたタンパク質や核酸の高感度検出法として、銀染色法が注目されています。しかし、操作が煩雑な上、時間を要するという欠点があります。

2D- 銀染色試薬・II は、試薬の調製及び操作法にわずらわしさがなく、短時間で鮮明な染色パターンが得られるように開発された電気泳動用銀染色試薬です。

特長

- 1) 電気泳動後、短時間で染色できます。
- 2) 高感度でタンパク質、核酸の染色ができます。
タンパク質：CBB法の50～100倍
核酸：EB法の50～100倍
の感度が得られております。
- 3) 試薬の調製及び染色操作が簡便です。
- 4) CBB法で染色した後のゲルの染色もできます。
- 5) 適度な染色像が得られた時点で、現像を停止することができます。

適応

スラブ型ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE)、及び SDS- ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) 後のタンパク質及び核酸の染色。

内容

試薬名	主成分	容量
① 固定化剤	チオ尿素	100 mL
② 前処理剤	ジチオスライツール、グルタルアルデヒド、チオ尿素	100 mL
③ 染色液 A	硝酸銀	100 mL
④ 染色液 B	水酸化アンモニウム、水酸化ナトリウム	100 mL
⑤ 現像原液	クエン酸、ホルムアルデヒド、チオ硫酸ナトリウム	100 mL
⑥ 停止液	クエン酸	100 mL

使用法

I. 使用試薬・器具

1. メタノール (特級以上のもの)
2. 酢酸 (特級以上のもの)
3. 脱イオン水 (10^{-6} S 以下のもの)
4. メスシリンダー
5. 写真用バット
6. メスピペット

2D-Silver Stain Reagent II

Cat. No. 423413

www.cosmobio.co.jp

II. 試薬の調製法

試薬の調整はスラブゲル (140 mm × 140 mm × 1.0 mm) を基準としています。
ゲルの大きさにより体積比で換算調整します。各試薬は用事調製してください。

下記の処方に従って自製して下さい。

1. 固定液 I

メタノール 100 mL、酢酸 20 mL 及び脱イオン水 80 mL を加え全量を 200 mL とし、攪拌混合して固定液 I とします。

2. 固定液 II

メタノール 60 mL、酢酸 20 mL、① 固定化剤 10 mL、及び脱イオン水 110 mL を加え全量 200 mL とし、攪拌混合して固定液 II とします。

3. 前処理液

メタノール 100 mL、② 前処理剤 10 mL 及び脱イオン水 90 mL を加え全量を 200 mL とし、攪拌混合して前処理液とします。

4. 銀染色液

③ 染色液 A 10 mL と ④ 染色液 B 10 mL を混合し、脱イオン水 180 mL を加え全量を 200 mL とし、攪拌混合して銀染色液とします。

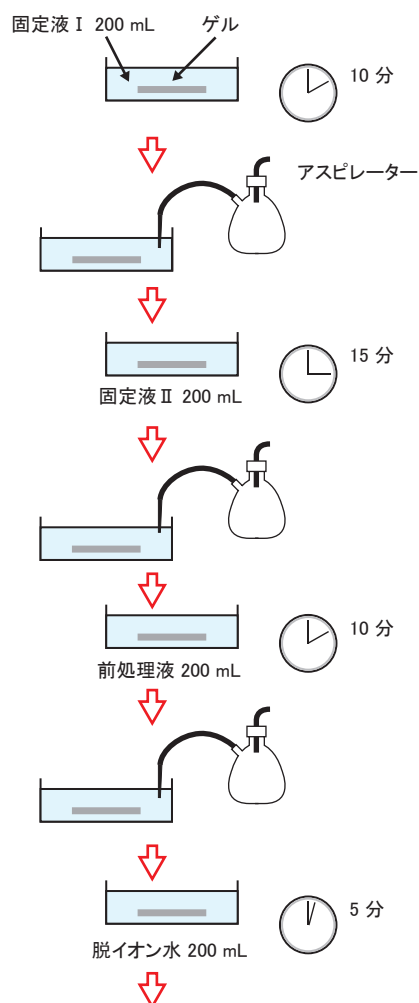
5. 現像液

⑤ 現像原液 10 mL に脱イオン水 190 mL を加え全量を 200 mL とし、攪拌混合して現像液とします。

III. 染色操作法

(タンパク質ゲル ≤ 1 mm の場合)

- 1 表面が平滑で清浄な容器に固定液 I 200 mL を注ぎ、ゲルを浸し、10 分間振とうします。



- 2 固定液を捨て、固定液 II 200 mL を注ぎ、15 分間振とうします。

- 3 固定液 II を捨て、前処理液 200 mL を注ぎ、10 分間振とうします。

- 4 前処理液を捨て、脱イオン水 200 mL を注ぎ、5 分間振とうします。

2D-Silver Stain Reagent II

Cat. No. 423413

www.cosmobio.co.jp

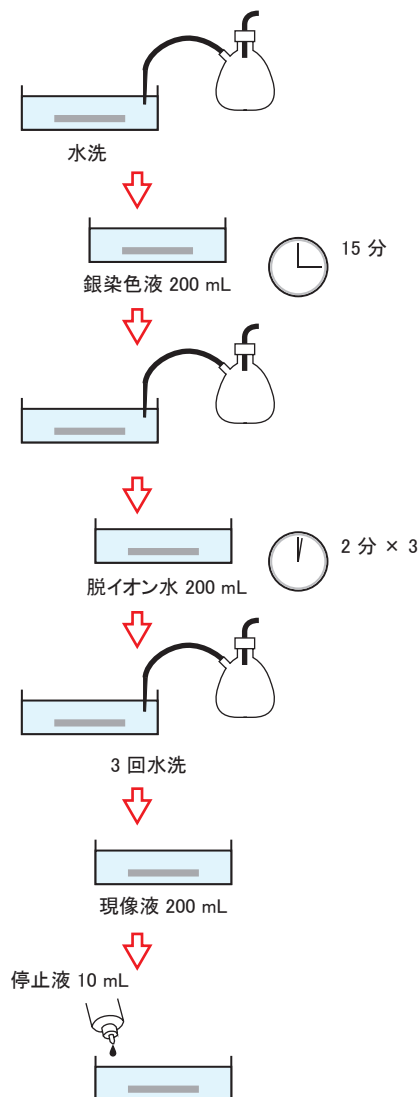
5 水を捨て、銀染色液 200 mL を注ぎ、15 分間振とうします。

6 銀染色液を廃液容器に捨て、脱イオン水 200 mL を注ぎ、2 分間振とうします。これを 3 回繰り返します。
(廃液には直ちに濃塩酸 2~3 mL を加え、塩化銀とします。)

7 水を捨て、現像液 200 mL を注ぎ、振とうします。

8 適度の染色像が得られたら (5~10 分)、㊸ 停止液 10 mL を注ぎよく振とうします。

9 現像が停止したら (~10 分) 十分水洗して保存してください。



・核酸染色の場合は、本キット中の固定化剤、前処理剤を使用せず、10% トリクロロ酢酸、50% メタノールを調製してお使いください。

試薬	使用量 (140 mm × 140 mm × 1.0 mm の場合)	振とう時間 ^{※a}		
		ゲル ≤ 1 mm	ゲル ≤ 2 mm ^{※b}	等電点ゲル
1. 固定液 I	200 mL	10 分	20 分	60 分 ^{※c}
2. 固定液 II	200 mL	15 分	30 分	30 分
3. 前処理液	200 mL	10 分	20 分	30 分
4. 脱イオン水	200 mL	5 分	10 分	5 分
5. 銀染色液	200 mL	15 分	25 分	30 分
6. 脱イオン水	200 mL × 3	各 2 分	各 5 分	各 2 分
7. 現像液	200 mL	5~10 分	5~10 分	5~10 分
8. 停止液	10 mL			

※ a 時間は処理時の試薬温度 20~23°C を基準としたものです。

※ b 各試薬の使用量は 2 倍になります。

※ c 等電点ゲルの場合には、3.5% スルホサリチル酸 11.5% トリクロロ酢酸 200 mL を固定液 I として使用して下さい。



2D-Silver Stain Reagent II

Cat. No. 423413

www.cosmobio.co.jp

【使用上の注意】

- 1) 調製した銀染色液は放置すると爆発性の銀アミドを生成する危険性がありますので、使用後は必ず塩酸や塩化ナトリウム等で、塩化銀の沈殿物にしてください。[操作法 6]
- 2) 本製品の構成試薬中、染色液 B はアルカリ物質として水酸化ナトリウム、水酸化アンモニウムを含有していますので、目や皮膚につかないよう注意してください。もし、目に入った場合は速やかに流水で洗眼した後、医師の手当を受けてください。皮膚や衣服については速やかに水で洗い流してください。
- 3) 染色液 A 等その他の構成試薬も粘膜、皮膚等を刺激する場合があります。もし、目、皮膚や衣服についたときは速やかに洗い流してください。また炎症を起こした場合は医師の手当を受けてください。
- 4) 銀染色液を加えたとき、液が着色あるいは濁りを生じることがありますが、染色には影響しません。[操作法 5]
- 5) 使用する水は 10^{-6} S 以下の脱イオン水を使用してください。
- 6) 染色に使用する容器は表面が平滑で清浄なものを使用してください。
- 7) CBB 法染色後、さらに銀染色を実施する場合は、脱色を十分に行い（3 時間以上数回脱色液を交換しながら脱色した後）、銀染色の操作を行ってください。
- 8) 操作中ゲルにきずをつけないように注意してください。
- 9) 操作中ゲルが液面より出ないように注意してください。
- 10) ゲルが直接皮膚に触れないよう、操作はディスポーザブルの手袋を使用してください。
- 11) 振とう器がない場合は、時々手で振とうしてください。
- 12) ゲル厚が 1 mm 以上の場合は、多少検出感度が低下します。
- 13) 試薬は密栓冷蔵保存してください。開封後は 6 カ月以内に使用してください。
- 14) 使用する試薬（メタノール、酢酸）は特級以上の高純度品を用いてください。

【包装】

スラブゲル（140 mm × 140 mm × 1.0 mm）10 枚用

【貯法】

2 ~ 10°C 遮光

【使用期限】

外装に記載

【参考文献】

- 1) K. Ohsawa et. al. : Silver Stain for Detecting 10-Femtogram Quantities of Protein after Polyacrylamide Gel Electrophoresis. Anal. Biochem., 135,409(1983)
- 2) 入江伸吉 : ゲル内のタンパク質の高感度銀染色法、生化学、52、411 (1980)
- 3) B.R. Oakley et. al. : A simplified ultrasensitive silver stain for detecting proteins in polyacrylamide gels, Anal. Biochem., 105, 361 (1980)
- 4) H. M. Poehling et. al. : Visualization of proteins with silver "stain", a critical analysis, Electrophoresis, 2, 141 (1981)
- 5) U.K. Laemmli : Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄, Nature, 227, 680 (1970)

本商品をご利用になられた文献、発表データを募っております。

本商品をご利用いただいて投稿された論文、学会発表パネルなどを送付いただきましたお客様に粗品を進呈させていただきます。ご提供いただきました論文などは、WEB やカタログ、技術資料を通じて多くの研究者の方への技術情報として利用させていただく場合がございます。是非皆様のご協力をお願いいたします。

送付方法

郵 送

〒135-0016 東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル
コスモ・バイオ株式会社 製品情報部 宛

E-mail

tech@cosmobio.co.jp ※ PDF ファイルにてお送りください。

コスモ・バイオ株式会社
COSMO BIO Co., LTD.

- 商品の価格・在庫・納期に関するお問い合わせ —
TEL: 03-5632-9630 (受付時間 9:00 ~ 17:30)
FAX: 03-5632-9623 E-mail: nouki@cosmobio.co.jp
- 商品に関するお問い合わせ —
TEL: 03-5632-9610 (受付時間 9:00 ~ 17:30)
FAX: 03-5632-9619 E-mail: service@cosmobio.co.jp

本社所在地 〒135-0016 東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル