



Stains All Gel Staining Kit for Acidic Proteins

Catalog No. AK02

July 1, 2024

Introduction

Acidic Proteins that regulate bone calcification such as Osteocalcin, Osteopontin and BSP II, are major components of bones and teeth. These acidic proteins are difficult to detect by conventional staining methods of SDS-PAGE gels.

The Stains All Gel Staining Kit (Cat.No. AK02) is specifically designed to stain strongly acidic proteins. The color of the protein band varies depending on the Protein's isoelectric point and chemical modifications like glycosylation and phosphorylation.

Components

Component	Quantity	Storage
Staining Stock Solution (x10)	40 mL	room temperature
Dilution Buffer	200mL x 2	room temperature

One kit can stain 20 mini slab gels

Additional Materials Required

- 25% isopropanol
- Deionized water

Reagent preparation

Staining Solution (Prepare immediately prior to use)

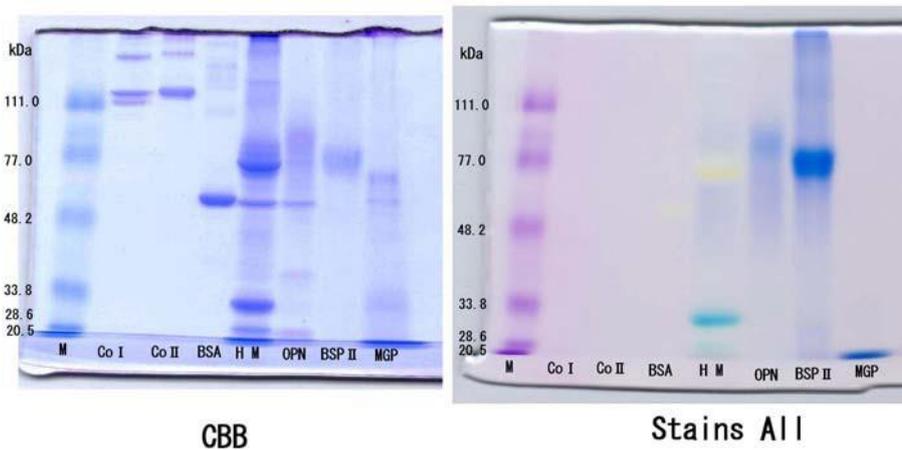
Dilute 2 ml of Stain Stock with 18 ml of Dilution Buffer. (Protect the Stain solution from light)

Protocol

1. Step to stain 1 mini slab gel
2. Wash the SDS-PAGE gel in 20~30 ml of 25% isopropanol. Shake for 20 minutes.
3. Decant the isopropanol and repeat step1 (x3 times or more) to completely remove SDS. Overnight washing is recommended for final step, because any remaining SDS in the gel will react with the stain solution and interfere with protein staining.
4. Decant 25% isopropanol and wash gel in deionized water for 10 minutes with shaking.
5. Replace the water and repeat step 3 for 3 times.

6. Decant water and add 20 ml of prepared Stain Solution.
7. Cover dish with aluminum foil to protect from light. Shake for 3 hours.
8. Decant Stain Solution and wash the gel in deionized water at least 2 times.
9. The red color in the background will fade if the gel is left under natural light for approximately 10 minutes. The protein bands of various staining intensities and colors will become more visible.

Example



M: Molecular-weight marker, Co I : Type I Collagen, Co II : Type II Collagen,
 BSA : Bovine serum albmin, HM: Human milk total protein, OPN: Osteopontin from human milk,
 BSP II : Bovine bone sialoprotein, MGP: Bovine matrix glaprotein

References

- (1) Nagao, Y., Imai, Y., Matsui, J., Ogawa, T., Miyashita, T. Proton Transport Properties of Poly(aspartic acid) with Different Average Molecular Weights. *J.Chem.Thermodynamics*.43, 613-616 (2011)
- (2) Namikawa, Kazuhiko., Sato, Y umi., Maruo, T., Sunaga, F., Sakaguchi, K., Suzuki, J. A Study of a n Erythrocyte Membrane Protein that Contrib utes to Inhibition of Agglutinatio n of Feline Erythro cytes in Glucose Solution. *J.Electrophoresis*. 54, 9-12 (2010)



一般研究用キット

Stains All ゲル染色キット

(Stains All Gel Staining kit, 品番 : AK02)

2024 年 7 月 1 日改訂

※本品は、研究目的にのみご使用ください。

骨、歯などの石灰化の制御は、オステオカルシン、オステオポンチンなどの酸性タンパク質が関与していることが明らかになっています。このような酸性タンパク質を電気泳動で分離し CBB 染色液で検出した場合、染色性が非常に悪く検出感度が低くなることが知られています。

本キットは、塩基性色素である Stains All を用いることで従来の染色方法が不得意とする強酸性タンパク質の染色に特に有効性を発揮します。

《I-1. キット構成》

内容	容量	本数	保存温度
発色原液 Staining Stock Solution (×10)	40ml	1 本	室温 (遮光保管)
緩衝液 Dilution Buffer	200ml	2 本	室温

※本製品は、ミニスラブゲルを 20 枚分染色することができます。

※25%イソプロパノール、脱イオン水を別途にご用意願います。

《I-2. キットの特徴》

- ・CBB 染色法では染まりにくい強酸性タンパク質の染色に適している。

《II-1. 染色方法 —ミニスラブゲル 1 枚を染色する場合—》

- (1) 適切な容器に 25%イソプロパノールを 20~30ml 入れ、電気泳動が終わったゲルを液中に浸し、20 分間よく振盪します。この操作を 3~4 回繰り返し、SDS を完全に除きます。SDS が残っていると Stains All が SDS と反応してタンパク質の染色を妨げるため、最後の除去操作を 25%イソプロパノールに浸した状態で一晩おくことをお勧めいたします。
- (2) 25%イソプロパノールを捨てた後、脱イオン水を加えて 10 分間よく振盪します。この操作を 3~4 回繰り返します。
- (3) 脱イオン水を捨てた後、染色液 20ml を加えます。遮光状態で軽く振盪しながら 3 時間染色します。

※染色液の調製は《II-2. 染色液の調製》をご覧ください

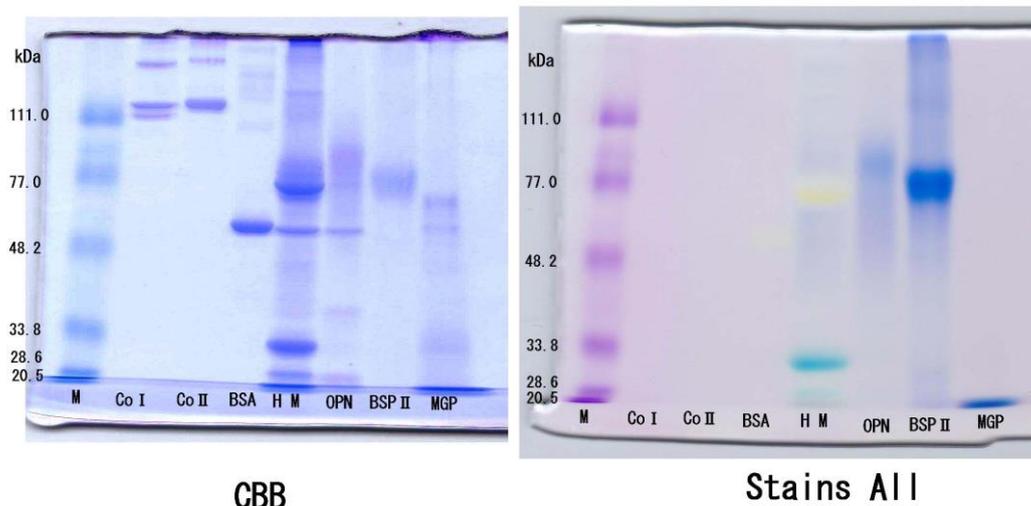
- (4) 染色を終えたゲルを脱イオン水で数回洗浄後、10 分程度の室内光を照射することで背景の赤色が消え、種々の色に染まった酸性タンパク質が浮かび上がってきます。

《II-2. 染色液の調製》

染色液の調製は、緩衝液 18mL と発色原液 2mL を混合します。

調製した染色液の保存はできませんので、使用時に調製してください。

《Ⅲ. 酸性タンパク質の染色例》



M:分子量マーカー^(*)、Co I : Type I Collagen、Co II : Type II Collagen、BSA:牛血清アルブミン、H M : ヒトミルク総タンパク質、OPN : ヒトミルクオステオポンチン、BSP II : 牛骨シアロタンパク質、MGP : 牛マトリックスマグロプロテイン

(*) 組成によっては染色されづらいものもあります。プレステインタイプをお勧めします。

《Ⅳ. 参考文献》

- (1) Nagao, Y., Imai, Y., Matsui, J., Ogawa, T., Miyashita, T. Proton Transport Properties of Poly(aspartic acid) with Different Average Molecular Weights. *J.Chem.Thermodynamics*.43, 613-616 (2011)
- (2) Namikawa, Kazuhiko., Sato, Y umi., Maruo, T., Sunaga, F., Sakaguchi, K., Suzuki, J. A Study of a n Erythrocyte Membrane Protein that Contrib utes to Inhibition of Agglutinatio n of Feline Erythro cytes in Glucose Solution. *J.Electrophoresis*. 54, 9-12 (2010)