

Cat No. 37937-96

取扱説明書

ポリアクリルアミドゲル電気泳動用銀染色キット

Silver stain KANTO III (シルバーステイン KANTO III)

1. はじめに

本製品は、ポリアクリルアミドゲル電気泳動法によって分離されたタンパク質や核酸を銀染色するためのキットです。従来の銀染色キットより簡便な操作で短時間に染色することができます。

2. 特長

1) 短時間

電気泳動終了後、約 1 時間で染色操作が完了します。

2) 試液の調製・染色操作が容易

試液はキットの原液を水で 20 倍希釈するだけで調製できます。(試薬 F は希釈不要)

3) バンドパターンの確認・記録が容易

鮮明で再現性の良い染色像が得られます。

4) 安全

水酸化ナトリウムおよびアンモニア水を使用していませんので、爆発性のある銀アミドを生成する危険性はありません。

5) 重染色が可能

Coomassie Brilliant Blue 染色法 (CBB 法) で染色したゲルも染色ができます。

6) 高感度

タンパク質では CBB 法の 10~100 倍、核酸では Ethidium Bromide 法の 5~10 倍の感度が得られます。

3. 内容

本製品には下記の試薬が含まれています。試験研究用以外には使用しないで下さい。

4. 試液の調製・染色操作

裏のチャートをご参照下さい。

試液の調製はミニスラブゲル (80×80×1.0mm) 1 枚分を基準にしています。ゲルの大きさが異なる場合は、体積比で換算して液量を調節して下さい。

スラブゲル (140×140×1.0mm) では 4 倍の液量で染色可能です。

5. 使用上の注意

1) 試液調製・洗浄用の水には脱イオン水または蒸留水をご使用下さい。また、使用する試薬 (メタノール、酢酸) は特級以上の高純度品をご使用下さい。

2) 各試液は用時調製し、試液の温度は 25℃ 前後に調整してご使用下さい。

3) 試薬 E はアルカリ性ですので、取り扱いには十分ご注意ください。万一目などに入った場合は直ちに流水で十分洗浄し、医師の処置をお受け下さい。

4) 使用する容器 (コンテナ等) は表面が平滑でよく洗浄されたものをご使用下さい。

5) 手指でゲルに直接接触すると指紋が染色されますので、必ずディスポーザブルの手袋を着用して下さい。

6) ゲルに処理液が十分ゆきわたるよう穏やかに振とうしながら操作して下さい。振とう器がない場合には時々手で振とうして下さい。

7) 操作中ゲルに傷をつけないよう気をつけて下さい。

8) 操作中ゲルが液面から出ないように気をつけて下さい。

9) 振とう中ゲルが容器に付着しないよう注意して下さい。

6. 廃液処理

染色液の廃液は専用容器に集め、適切に処理して下さい。

7. 保存

密栓、遮光、保冷 2~10℃

名称	容量・本数	主成分
試薬 A (増感原液)	200ml×1	ジチオスレイトール
試薬 B (染色原液 I)	200ml×1	硝酸銀
試薬 C (染色原液 II)	200ml×1	けいタングステン酸
試薬 D (現像原液 I)	200ml×1	ホルムアルデヒド
試薬 E (現像原液 II)	200ml×1	炭酸カリウムナトリウム
試薬 F (現像停止液)	200ml×1	クエン酸



関東化学株式会社
試薬事業本部

〒103-0022 東京都中央区日本橋室町 2 丁目 2 番 1 号 (03)6214-1090
 〒541-0048 大阪市中央区瓦町 2 丁目 5 番 1 号 (06)6231-1672
 〒812-0007 福岡市博多区東比恵 2 丁目 22 番 3 号 (092)414-9361
 《URL; <http://www.kanto.co.jp/>, e-mail; reag-info@gms.kanto.co.jp》

Cat No. 37937-96

取 扱 説 明 書

ポリアクリルアミドゲル電気泳動用銀染色キット

Silver stain KANTO III (シルバーステイン KANTO III)

8. 試液の調製・染色操作 (ポリアクリルアミドスラブゲル 1 枚 (80×80×1.0mm) を染色する場合)

各試液は用時調製し、試液の温度は 25℃前後に調整してご使用下さい。

手順	調製する試液	染色操作	操作概要
1	固定液 (調製液量 100ml) メタノール 50ml、酢酸 10ml、 脱イオン水 40ml を混和します。	容器に固定液 100ml を入れ、泳動後のゲルを 浸し、20 分間振とうします。	固定液 100ml 振とう 20 分 液廃棄
2	増感液 (調製液量 100ml) 試薬 A 5ml、脱イオン水 95ml を 混和します。	固定液を捨て、増感液 100ml を注ぎ、10 分間 振とうします。	増感液 100ml 振とう 10 分 液廃棄
3		増感液を捨て、脱イオン水 200ml を注ぎ、 10 分間振とうします。	脱イオン水 200ml (洗浄) 振とう 10 分 液廃棄
4	染色液 (調製液量 100ml) 脱イオン水 90ml に試薬 B 5ml、 試薬 C 5ml を加えて混和します。	水を捨て、染色液 100ml を注ぎ、10 分間振とう します。	染色液 100ml 振とう 10 分 液廃棄
5		染色液を廃液容器に捨て、脱イオン水 200ml を注ぎ、1 分間振とうします。	脱イオン水 200ml (洗浄) 振とう 1 分 液廃棄
6		水を捨て、脱イオン水 200ml を注ぎ、再び 1 分 間振とうします。	脱イオン水 200ml (洗浄) 振とう 1 分 液廃棄
7	現像液 (調製液量 100ml) 脱イオン水 90ml に試薬 D 5ml、 試薬 E ^(註) 5ml を加えて混和します。	水を捨て、現像液 100ml を注ぎ、適度な染色像 が得られるまでよく振とうします (5~10 分)。	現像液 100ml 適度な染色像が得られるまで 振とう (5~10 分)
8		適度な染色像が得られた時点で、さらに試薬 F 5ml を注ぎ、10 分間振とうします。	試薬 F 5ml 添加 振とう 10 分 液廃棄
9		現像液を捨て、ゲルを脱イオン水で十分洗浄 した後、保存します。	脱イオン水 (洗浄)

^(註) 試薬 E を 0℃以下に冷却すると不溶物が析出する場合があります。この場合には試薬 E を加温し、完全に溶解させてからご使用下さい。

9. 参考

- 泳動後のゲルを翌日染色する場合は、ゲルを固定液に浸し、保存して下さい。翌日、手順 2 から操作して下さい。
- CBB 染色したゲルを重染色する場合は、バックグラウンドを完全に脱色した後、手順 2 から操作して下さい。

10. 参考文献

- Morrissey, J. H. (1981) Silver stain for proteins in polyacrylamide gels: a modified procedure with enhanced uniform sensitivity. *Anal. Biochem.*, **117**, 307-310
- Peats, S. (1984) Quantitation of protein and DNA in silver-stained agarose gels. *Anal. Biochem.*, **140**, 178-182
- Laemmli, U. K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. *Nature*, **227**, 680-685