

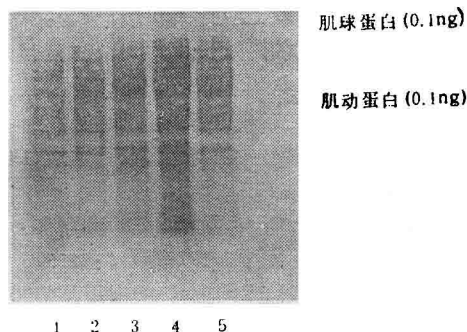
介绍一种快速灵敏的银染新方法

凌 俊

(中国科学院上海植物生理研究所)

关键词 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 银染, 蛋白质

银染已成为凝胶电泳中检测微量蛋白质的一项十分有效的实验技术^[1,2],但实际运用中仍存在着不少问题,对试剂及水要求很高,背景深,导致条带不清是其主要问题。为了解决这些问题,我们比较研究了多种银染程序,主要通过提高反应温度,改变固定及还原步骤的试剂配方,摸索出一套快速、灵敏的新方法,整个染色可在一小时内完成。固定之后,在含有乙醇的醋

**图1** 聚丙烯酰胺凝胶电泳银染图谱

1—5: 小麦胚乳总蛋白

表1 银染程序

步 骤	时间(min)	温度(°C)
1. 30% 乙醇, 10% 醋酸	2×4 ¹⁾	50
2. 30% 乙醇, 0.4mol/L 醋酸钠, pH6.0, (内含 0.5% 戊二醛, 0.1% 硫代硫酸钠)	8	50
3. 水洗 (milli-Q Water) ²⁾	3×3 2×4	50
4. 0.1% AgNO ₃ (每 100ml 加 50 μl 甲醛)	10(避光)	40
5. 2.5% Na ₂ CO ₃ (每 500ml 加 200 μl 甲醛)	快速洗一下换溶液至充分显带为至一般 1—10 min	40
6. 5% HAc	2	50
7. 水洗浸于 2% HAc 中保存, 或经 20% 甘油处理后, 抽干		

1) 前一数字为次数, 后者为时间

2) 双重蒸水

**图2** SDS 电泳银染图谱

1: 小麦胚乳总蛋白 2: 部分纯化的肌动蛋白 3: 标准蛋白

酸缓冲液中加入硫代硫酸钠处理, 明显提高了染色的灵敏度, 0.05—0.1 ng 的条带可被显色, 相当于普通银染^[2]复染多次的效果。加上多次高温水洗, 有效地除掉了凝胶中干扰显色的物质。对 SDS 电泳, 减轻巯基乙醇产生的棕黄色背景较为有效。达到了背景浅, 条带深的良好结果。(图 1, 图 2) 我们的主要染色程序如表 1。

实验结果表明, 此法不仅适用于普通聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE), SDS-PAGE, 等电聚焦等多种电泳系统, 也适用于硝酸纤维素膜上极微量蛋白质的定位。

本文承施教耐教授审阅, 特此致谢。

参 考 文 献

- 1 Kerenyi L, Gallyas F. *Clin Chim Acta*, 1972; **38**: 465
- 2 Merrill C R *et al. Science*, 1981; **211**: 1437
- 3 Switzer R C *et al. Anal Biochem*, 1979; **98**: 231

[本文于 1989 年 5 月 11 日收到]