

Negative Gel Stain MS Kit

It is known that protein bands separated by SDS/polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) can be visualized as transparent bands against the background of milky white gel stained by the negative gel stain with a Zn/imidazol reagent. We have improved the method using a new imidazol derivative reagent, which allows a clear and stable image of protein bands on the gel as sensitive as that by the silver staining, with such the short times as 10 minutes. The staining technique is useful to obtain the clear and sensitive resolution pattern of the gel before immunoblotting as well as to excise and purify the band of interest from the gel without significant deterioration of amino acid residues for the subsequent studies of protein such as sequencing and mass analysis of peptide.

Features

1. Visualize protein bands on SDS-PAGE gel much more sensitively and simply with a few steps than by CBB R-250 staining.
2. Optimize the staining intensity by either de-staining the excess stain or re-staining following de-stain of the gel.

Contents

- | | | |
|-------------------------|--------|----------|
| 1. Staining Solution A | 500 mL | 1 bottle |
| 2. Staining Solution B | 500 mL | 1 bottle |
| 3. De-staining Solution | 500 mL | 1 bottle |

Materials and apparatuses to prepare

A transparent 50-100 mL-vessel for stain of the gel

A rotator shaker

A sheet of black paper

Procedure

1. Immerse a SDS-PAGE gel into 25mL of Staining Solution A in a transparent vessel for staining, and gently shake it by a rotator shaker for 5-10 minutes.
2. Drain off the staining solution from the vessel, and then rinse the gel for 1 minute three times with 50mL of distilled deionized water.
3. Add 25mL of Staining Solution B to the vessel, and shake it for 10-50 seconds, while checking staining intensity of the gel against a sheet of black paper.
4. Stop the staining by drain of the staining solution followed by wash of the gel with distilled deionized water for 1 minute three times as described above in 2. In case of excess staining of the gel, the gel could be de-stained with 2% EDTA3Na solution prepared until a desirable density, and washed with distilled deionized water as described above.

The image of stained gel rapped in a vinyl bag is stable for about 3 weeks at 2-10 °C.

When used in subsequent experiments such as Western Blotting and de-staining, gel is de-stained by the follow treatment.

5. Immerse the gel into 25mL of De-staining Solution provided followed by gentle stirring the vessel until the staining image reaches a desirable intensity. It takes about 15 minutes for complete removal of the staining, which can be used for the subsequent experiments such as Western Blotting as well as re-staining after wash of the gel as described above.

Notes

1. Be careful not to mix the solutions provided to each other, otherwise, the solutions are inactive or insensitive.
2. Wear the gloves on staining.

Reference

1. Fernandez-patron, *et al.*: *Anal. Biochem.*, **224**, 263 (1995).

FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation

1-2, Doshomachi 3-Chome, Chuo-Ku, Osaka 540-8605, Japan
Telephone : + 81-6-6203-3741
Facsimile : + 81-6-6201-5964
<http://fwk.fujifilm.co.jp>

FUJIFILM Wako Chemicals U.S.A. Corporation

1600 Bellwood Road
Richmond, VA 23237
U.S.A.
Telephone : + 1-804-271-7677
Facsimile : + 1-804-271-7791
<http://www.wakousa.com>

FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH

Fuggerstrasse 12
D-41468 Neuss
Germany
Telephone : + 49-2131-3111-0
Facsimile : + 49-2131-311100
<http://www.wako-chemicals.de>

コード No. 293-57701 (20 回用)

電気泳動用

ネガティブゲル染色MSキット

〔はじめに〕

SDS-PAGEにより泳動分離したたん白質は亜鉛 / イミダゾール処理によりネガティブ染色を行うと、ゲルのバックグラウンドが白濁し、バンドの透明な像が得られます。当社では新規にイミダゾール誘導体を用いることで短時間（約10分）で銀染色と同等の染色を実現しました。また、染色後の安定性も向上しました。

本品は、CBB染色に比べ時間短縮及び高感度化しており、プロットイング前の分離チェックの他、たん白質の不必要な修飾を受けませんのでシークエンスや質量分析のためのバンドの切り出しに有効です。

〔特 長〕

- (1) SDS-PAGE後の泳動像を短時間（約10分）で高感度に染色できる。
- (2) たん白質が不必要な修飾を受けませんので、1枚のゲルで分離チェックとウエスタンブロットができる。
- (3) 染色・脱色の繰り返しができる。

〔キット内容〕

- | | |
|----------|-----------|
| (1) 染色液A | 500 mL×1本 |
| (2) 染色液B | 500 mL×1本 |
| (3) 脱色液 | 500 mL×1本 |

〔操作上必要な器具及び試薬〕

染色用透明容器
ローテーター
黒い紙

〔操作方法〕

〈染色〉

- ①SDS-PAGE後のゲルを染色液A 25 mL の入った透明な染色容器に浸し5～10分間振とうします。
- ②染色液Aを捨て、蒸留水50 mL で約5～10秒間×3回洗浄します。
- ③染色液B 25 mL を加えて黒い紙の上で染色像を確認しながら約10～60秒間振とう、染色します。

(注意) 染色が過ぎた場合、0.05 M EDTA3Na 溶液で振とうすることにより脱色できます。脱色が過ぎた場合は、10分間×3回以上水で洗浄して再染色できます。この場合①から始めて下さい。

④染色終了後は、直ちに蒸留水で1分間×3回洗浄して下さい。染色ゲルは、ポリ袋中で2～10℃で約3週間安定です。

＜脱 色（ウエスタンブロッティング等に使用する場合）＞

⑤蒸留水を捨て脱色液25 mLを加えます。ゲルが透明になるまで約5分間振とうします。

⑥脱色液を捨て、蒸留水50 mLで1分間×3回以上洗浄します。

⑦以後はウエスタンブロッティング法の操作に従って下さい。

〔使用上または取扱上の注意〕

- 1) 3液が混ざらないようご注意下さい。染色感度が落ちたり、染色できなくなる場合があります。
- 2) 染色はビニール手袋をして操作して下さい。
- 3) 使用後の廃液は難溶性の塩となっています。ろ過して重金属廃液として処理して下さい。
- 4) 染色液AにはSDSが含まれます。界面活性剤廃液として処理して下さい。
- 5) 染色液Bには硫酸亜鉛が含まれます。染色液Aと混合して難溶性の塩を生成し重金属廃液として処理して下さい。

〔参 考 文 献〕

- 1) Fernandez-patron, *et al.*: *Anal. Biochem.*, **224**, 363 (1995).

製造発売元

富士フイルム 和光純薬株式会社
大阪市中央区道修町三丁目1番2号
Tel : 06-6203-3741

2308KA2