



北京艾德莱生物科技有限公司

Aidlab Biotechnologies Co., Ltd

- ◆ 超敏可逆蛋白印迹膜染色试剂盒I
 - ◆ 目录号 **PP08**
 - ◆ 使用手册
 - ◆ 实验室使用，仅用于体外
-

❖ **试剂盒组成、储存、稳定性：**

试剂盒组成	保存	100ml	200ml
染色液	室温	50 ml X 2	200ml
漂洗液(10×)	室温	30ml	60ml
脱色液(10×)	室温	20ml	40ml

本产品收到后按照上面指示温度存放各成份，12 个月内有效。

❖ **产品介绍：**

可逆蛋白印迹染色是一种灵敏的检测硝酸纤维素膜或者 PVDF 膜上转移蛋白的方法，可以非常有效的检测蛋白转膜效果。传统的丽春红染色（Ponceau S）敏感度非常低（250ng），染色退色快并且红色不容易拍照保存。本公司独有配方的染色液具有蛋白高亲和性，和蛋白印迹膜上蛋白快速结合呈现清晰的兰色，敏感度比传统丽春红染色高 10 倍（<25ng）。此外染色液中特殊化合物和蛋白的结合力主要是离子键的可逆结合，不影响后续的 Western blot。该试剂盒常用于 Western blot 分析前证实蛋白确实转膜成功，并可以估计不同泳道蛋白上样量是否基本一致。

❖ **产品特点：**

1. 无背景染色，敏感度高，比传统丽春红染色高 10 倍。
2. 蛋白染成翠兰色，解决了丽春红染色红色不易照相保存的问题。
3. 可逆染色，完全不影响蛋白质性质，不影响抗体抗原结合性质 Western blot 实验，和质谱分析、N 末端测序等兼容。
4. 步骤简单，方便快捷。
5. **推荐使用硝酸纤维素膜，大部分情况染膜效果优于 PVDF 膜。**

❖ **操作步骤:**

提示: 各操作步骤都要保证足够量的液体盖过膜, 可以用手轻摇, 也可以在摇床上中速振摇进行。开始实验前请将 10×的漂洗液和洗脱液稀释成 1×的工作液备用(不要长时间暴露于空气, 防止 pH 值变化)。

1. **染色**

- 1) 转膜后将印迹膜放置于一个干净的容器中, 倒入纯水涮洗几秒钟倒空。如果是干燥的 PVDF 膜, 用 100% 甲醇湿化。
- 2) 根据膜大小倒入适量的染色液(只要确保膜都浸没在染色液内就可以, 10-20ml 足够染色一块普通的 8×8cm 的硝酸纤维膜), 用手轻摇染色 30-60 秒(也可根据染色情况延长)。染上色的蛋白条带会呈现兰条带。

2. **漂洗(去除背景染色)**

- 1) 倒弃染色剂, 加入适量的漂洗液后, 涮洗 5-10 秒钟后倒去, 重复该步骤一遍(如背景高, 可适当延长漂洗时间)。
- 2) 再加入适量漂洗液后, 摇床上中速振摇 2-5 分钟。
- 3) **可选步骤(仅用于 PVDF 膜): 如果 PVDF 膜漂洗效果不理想, 可以加用 20% 甲醇漂洗一次。**
- 4) 倒弃漂洗液, 加入适量纯水后, 涮洗 5-10 秒钟后倒去, 重复该步骤一遍(如背景高, 可适当延长漂洗时间), 此时可以观察到翠兰的蛋白条带。
- 5) 加入适量纯水后, 摇床上中速振摇 2-5 分钟。观察到满意条带后, 此时处于湿润状态的膜(放在纯水中照相对比效果更好)就可以照相了。



3. 脱色（消除蛋白条带染色）

1) 倒弃纯水后，加入 20-30ml 脱色液，摇床上中速振摇 2 分钟。

注意：对大部分蛋白来说，2 分钟中速振摇比较合适，但也可以延长时间到 5 分钟，脱色迅速的只要结果满意即可中止脱色。

2) 倒弃脱色液，加入适量纯水后，涮洗 5-10 秒钟后倒去，重复该步骤一遍。

❖ 问题与解决方法

问题	评论与建议
没有见到条带 或者只有 微弱的条带	<ul style="list-style-type: none">★ 上样蛋白浓度太低了，检测上样蛋白的浓度。★ 转膜效率太低。检查转膜过程。
蛋白条带没有完全脱色	<ul style="list-style-type: none">★ 膜在脱色前干了。应该保持膜一直处于湿润状态。★ 样品中蛋白浓度太高了，上样量太多。可以延长脱色时间到 5 分钟或者减少起始蛋白上样量。

