

## IEF 考马斯亮蓝染色试剂盒说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

### 产品简介：

考马斯亮蓝染色液(Commassie Blue Staining Solution)是以考马斯亮蓝 R250 为染料可用于 SDS-PAGE 或非变性 PAGE 等蛋白电泳胶的常规染色或 Western 转膜后 PAGE 胶上残余蛋白的检测。

等点聚焦染色后考马斯亮蓝染色又称 IEF 考马斯亮蓝染色，一般与三氯乙酸溶液及脱色液联合使用。本染色液经过改良，不含有毒的甲醇，但含有刺激性气味的乙酸。

### 产品组成：

产品名称	规格	保存条件	说明书	有效期
IEF 考马斯亮蓝染色试剂盒	600ml	RT	1 份	1 年
试剂(A): 考马斯亮蓝染色液	100ml	RT	1 份	1 年
试剂(B): 硫酸铜溶液	1ml	RT	1 份	1 年
临用前，按试剂(A):(B)=99:1 的比例混合，即为 IEF 考马斯亮蓝染色液。				
试剂(C): IEF 脱色液	500ml	RT	1 份	1 年

### 自备材料：

- 1、20%三氯乙酸水溶液
- 2、水平或侧摆摇床
- 3、蒸馏水
- 4、20%甘油水溶液

### 操作步骤(仅供参考)：

- 1、临用前，取适量的考马斯亮蓝染色液和硫酸铜溶液，按 99:1 的比例混合，即为 IEF 考马斯亮蓝染色液，即配即用。
- 2、等点聚焦电泳结束后，取凝胶放入 5-10 倍体积的 20%三氯乙酸水溶液，置于水平或侧摆摇床上缓慢摇动 30-60min。
- 3、倾去 20%三氯乙酸水溶液，加入 10 倍体积的 IEF 脱色液，置于水平或侧摆摇床上缓慢摇动 15-20min。
- 4、倾去 IEF 脱色液，加入新鲜配制的 IEF 考马斯亮蓝染色液，置于水平或侧摆摇床上缓慢摇动 20min 以上(胶厚度小于等于 1mm)或 1h 以上(胶厚度大于 1mm)。
- 5、倾去染色液，用蒸馏水冲洗。
- 6、加入适量常规脱色液，确保脱色液可以充分覆盖凝胶；推荐常规脱色液的配方是：40%乙醇，10%乙酸，50%蒸馏水。

7、置于水平或侧摆摇床上缓慢摇动，室温脱色 4~24h，期间更换脱色液 2~4 次，直至蓝色背景基本上全部被脱去，并且蛋白条带染色效果达到预期，通常蛋白条带在脱色 1~2h 后即可出现。

8、完成脱色后把凝胶保存在水中，用于后续的拍照等。保存在水中的凝胶会发生溶涨。如需避免溶涨，可以把胶保存在含 20%甘油水溶液中，长期保存可以制备干胶

**注意事项：**

- 1、染色时如果把凝胶和染色液一起放置在微波炉中适当加热，可以大大加快染色速度。但加热时宜尽量避免沸腾，以免出现因暴沸而导致的凝胶碎裂。
- 2、脱色期间可以在脱色液中加入一片吸水纸，可以使部分染料吸附在吸水纸上，加快脱色；脱色时间过长也会导致蛋白条带的颜色变浅。
- 3、如果希望染色的背景更低，希望获得更加清晰的蛋白条带，可以加入适量的室温蒸馏水进行洗涤。通过蒸馏水洗涤可以进一步降低背景。在 4℃蒸馏水中浸泡过夜可以获得背景更低，条带更清晰的条带。在次日对 4℃蒸馏水浸泡过夜的已经进行了染色的凝胶再同前一天一样进行染色和洗涤可以进一步改善染色效果，获得更好的考染蛋白条带。
- 4、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**相关产品：**

甘油-甲基绿溶液
过硫酸铵溶液 (AP, 10%)
磷酸盐-SDS 电泳缓冲液 (4×)
新建文本文档. bat
溴酚蓝水溶液 (1%)
溴酚蓝水溶液 (2%)