

膜-胶 10 秒快速染色液 (MemGel Stain Solution) P1601

描述: 膜-胶 10 秒快速染色液是 Dual-Dye 染料的水溶液, 不含有毒化学品, 可对 PVDF 和 NC 膜以及聚丙烯酰胺凝胶蛋白进行快速染色。灵敏度极高, 可检测 10 ng 蛋白条带, 而丽春红膜染色灵敏度为 1000 ng, 苏丹黑为 500 ng。本产品不使用醋酸和甲醇等有毒物质, 染色剂可直接溶于水。膜染色 1-2 分钟即可完毕, 条带清晰为紫褐色, 背景染色极低。新鲜或陈旧的干燥膜均可染色。染色条带清晰不退色, 可直接扫描或照相。染色完全可逆, 染过的膜在含 0.05% Tween 20 的封闭液封闭即可脱色, 也可在碱性条件下数秒内完全脱色。不影响后续 Western Blot。适用于硝酸纤维素膜、PVDF 膜、尼龙膜。用于监测蛋白转膜, 膜染色蛋白条带可用做 Western Blot 内对照。可以反复使用 2-4 次。

MemGel Stain 染液可直接用于硝酸纤维素膜和 PVDF 膜快速染色。1: 1 稀释后可用于聚丙烯酰胺凝胶蛋白快速染色。SDS-聚丙烯酰胺凝胶在蒸馏水或甲醇-醋酸溶液中洗涤 30 分钟, 浸入适量的醋酸-甲醇溶液和等量的膜-胶 10 秒快速染色液染色 2-10 分钟即可显示蛋白条带。只需在甲醇-醋酸溶液脱色 10 分钟即可得到背景干净的蛋白条带。50 分钟完成染色, 灵敏度为 50 ng/条带, 高于考马斯亮兰方法。凝胶染色液可反复使用 2-4 次。

适用: 直接用于硝酸纤维素膜和 PVDF 膜快速染色。1: 1 稀释后可用于聚丙烯酰胺凝胶蛋白染色快速染色。监测转膜、染色蛋白条带, 用做 Western Blot 内对照。

组成: Dual-Dye 水溶液 100 或 250 ml。可重复使用 2-4 次, 可染色 200-500 个 mini-gel 转移膜; 1: 1 稀释可配制 200 或 500 ml 凝胶染色工作液, 并可重复使用 2-3 次。染 200-500 个以上 mini-gel。

储存: 室温保存 12 个月有效

安全性: Dual-Dye 无特殊毒性, 按一般化学品操作规程处理。

操作步骤:

PVDF/NC 膜染色:

1. 将 PVDF 膜或 NC 膜完全浸入染色工作液, 室温 1-2 分钟, 膜上出现紫褐色蛋白条带。若蛋白丰富则 10 秒钟即可达到最佳对比度。没有蛋白条带表明膜上没有蛋白。
2. 取出膜, 扫描或照相。如果染色背景较深, 可用蒸馏水清洗背景染色, 直到出现满意的对比度。在水中停留更长时间会缓慢洗去部分染色, 但条带仍清晰可见。脱色过度可以重新染色。染过色的膜可干燥保存。
3. 将染色膜直接放入含去垢剂的封闭缓冲液中封闭(150 mM NaCl, 20 mM Tris-Cl pH7.4, 5% defat milk, 0.05% Tween 20)。1 小时后膜染色将完全褪去, 不影响后续 Western Blot 操作。另外, 将膜浸入 0.05-0.1N NaOH 水溶液中, 数十秒内即可完全清除膜染色, 不影响后续 Western Blot 操作。

聚丙烯酰胺凝胶蛋白染色溶液配制:

配制 50% 甲醇(或乙醇)-2% 醋酸溶液:

甲醇(或乙醇)	50 ml (自备)
冰醋酸	2 ml (自备)
蒸馏水	48 ml

室温保存。

配制 1X 凝胶染色工作液:

MemGel Stain Solution	50 ml
甲醇(或乙醇)	50 ml
冰醋酸	2 ml

室温保存。

聚丙烯酰胺凝胶蛋白染色程序:

1. SDS-聚丙烯酰胺凝胶在蒸馏水或 50% 甲醇(或乙醇)-2% 醋酸溶液中洗涤 2 次, 每次 15~30 分钟。如果聚丙烯酰胺凝胶不含 SDS, 可省略洗涤步骤直接进行下面的染色。
2. 凝胶浸入 1X 凝胶染色工作液, 2-3 min 即显示紫褐色蛋白条带, 10~20 min 可达到最大染色。
3. 取出凝胶, 放入 50% 甲醇(或乙醇)-2% 醋酸溶液脱色 10 分钟, 直到完全洗去背景染色。

说明:

1. 如果是干燥的 PVDF 膜, 染色前应该先用甲醇或乙醇浸泡湿润, 然后用水冲洗。
2. 膜染色可在蛋白转移之后立即进行, 或在完成 Western Blot 后进行。
3. 正如可用 DNA 或 RNA 琼脂糖凝胶电泳条带照相判断 Southern 或 Northern Blot 加样量一样, 膜染色条带极其清晰并与条带蛋白含量成正比, 因而可用做 Western Blot 的内对照。
4. 膜染色或凝胶染色之后, 染色液可以回收, 装入新容器内, 室温或 4 °C 保存, 可反复使用 2-4 次。