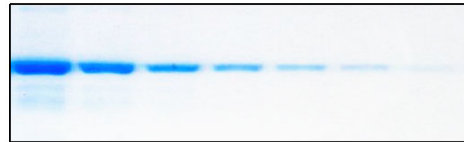


考马斯亮蓝快速染色液

产品编号	产品名称	包装
P0017	考马斯亮蓝快速染色液	250ml

产品简介:

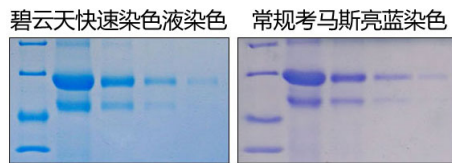
- 考马斯亮蓝快速染色液(Coomassie Blue Fast Staining Solution)是以考马斯亮蓝G250为染料,可用于SDS-PAGE或非变性PAGE等蛋白凝胶的无污染、快速、高灵敏染色,或Western转膜后PAGE胶上残余蛋白的检测。18分钟即可检测到100ng条带,约40分钟可检测到10ng条带,约50分钟即可获得背景非常低的凝胶染色,约150分钟即可获得几乎完美的无背景染色的蛋白条带。
- 本考马斯亮蓝快速染色液是一种无毒,无刺激性气味的高度环保型染色液。普通的常规方法需使用剧毒的甲醇及强刺激性的乙酸,而碧云天生产的考马斯亮蓝快速染色液则采取全新配方,实现了染色时的无毒和无刺激性气味。
- 本试剂盒可以进行高灵敏染色(详细请参考使用说明),最低可以清晰检测到10ng的蛋白电泳条带,参考图1。



蛋白上样量: 1000 500 200 100 50 20 10 ng

图1.蛋白凝胶加入50ml去离子水微波炉高火煮3min,换去离子水后再煮3min,摇床摇5min,染色30min,脱色2h后的效果图。蛋白(BSA)上样量如图中所示,清晰可见10ng条带,并且凝胶背景已经脱色至几乎完美的无色。

- 快速染色时,使用本考马斯亮蓝快速染色液染色和常规的考马斯亮蓝染色相比,效果基本一致,参考图2。



蛋白上样量: 10 3 1 0.3 μg 10 3 1 0.3 μg

图2.碧云天考马斯亮蓝快速染色液(采用快速染色方法)和常规考马斯亮蓝法染色蛋白凝胶的染色效果对比。常规方法使用碧云天的考马斯亮蓝染色试剂盒(常规法)。蛋白样品为BSA,凝胶为12% SDS-PAGE。考马斯亮蓝快速染色液染色前,凝胶在去离子水中煮沸3min,摇床摇5min,然后用考马斯亮蓝快速染色液染色10min,再用去离子水脱色10min(不脱色也可以观察到类似条带,但背景会深一些)。

- 无需对蛋白和凝胶进行固定,可以不进行脱色,操作更加简单。
- 本染色液和质谱分析兼容,即经过本染色液染色的蛋白条带或蛋白点与常规的考马斯亮蓝G250染色一样,可以用于后续的质谱分析。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
P0017	考马斯亮蓝快速染色液	125ml×2
—	说明书	1份

保存条件:

4°C避光保存,一年有效。

注意事项:

- 本染色液呈酸性,有轻微腐蚀性,使用时请作必要防护。
- 需自备去离子水。如无去离子水,也可以使用双蒸水。
- 如果使用微波炉加热,请特别注意避免因暴沸而导致凝胶碎裂。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用,不得用于临床诊断或治疗,不得用于食品或药品,不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 洗涤凝胶(本步骤的目的是为了洗去凝胶中的SDS等干扰物质,降低染色背景,提高染色灵敏度):

- a. 把凝胶放入适当容器中,加入50ml去离子水,微波炉高火加热3min。
- b. (可选做)倒掉去离子水,再加入50ml去离子水,微波炉高火加热3min。增加本步骤可提高检测灵敏度约3-10倍。
- c. 在侧摆摇床或水平摇床上摇动5min。

注1:对于凝胶浓度比较低,容易出现因加热而导致凝胶破损的情况,可以把电泳后的凝胶放入适当大小的容器中,加入100ml去离子水,摇床上摇动洗涤5min,共洗涤3-5次,也可以达到去除凝胶中的SDS等杂质的作用。如果希望加快洗涤,可以加入刚刚煮沸的100ml的去离子水,摇床上摇动洗涤5min,共洗涤2-3次。微波炉加热或者使用加热的去离子水洗涤的目的为了加快洗涤过程,缩短洗涤时间,如果时间比较充裕,完全可以在室温进行洗涤的。

注2:电泳结束后,将凝胶置于适当大小的容器中,例如可以使用20微升枪头盒的盖子或适当大小的培养皿等,加入约50ml的去离子水(包括Milli-Q水)或双蒸水,使凝胶被水完全覆盖,然后使用功率约为700W的普通微波炉高火加热3min通常就足够了。加热可以使凝胶中的SDS等杂质快速从凝胶中洗涤出来。换去离子水再次加热的目的是进一步洗涤去除凝胶中的杂质以降低背景提高染色灵敏度。参考上述步骤,微波炉高火加热3min一次通常后续可以快速检测到50-100ng的蛋白条带,微波炉高火加热3min两次通常后续可以检测到10-20ng的蛋白条带。

2. 染色:小心倒掉液体,吸除残液,加入约20ml考马斯亮蓝快速染色液,染色10-30min。

加入适量的考马斯亮蓝快速染色液(每块大小约8块大厘米的凝胶需使用约20ml),使染色液能盖住凝胶,且液面至少高出三个胶的厚度为宜,室温(20-25°C)在侧摆摇床或水平摇床上进行染色。在室温的染色时间宜为10-30min,实际染色时间可以根据染色效果自行调整,例如染色时间也可以长达120min。染色至能看到清晰的目标蛋白条带后,弃染色液,加入适量的去离子水,洗去残留的染色液,停止染色反应,然后即可拍照记录。如果希望获得没有背景的凝胶图片,可以进行后续的脱色步骤。通常染色10min就可以看到100ng左右的蛋白条带,而染色30min左右可观察到10-20ng的蛋白条带。

3. 脱色(可选做):加入约100ml去离子水,在摇床上摇动脱色。每隔约5-15min,小心倒掉液体,再加入100ml去离子水,继续在摇床上脱色。通常脱色30-120min即可获得背景很低甚至完美的凝胶染色效果。

按照上述步骤,通常脱色后30min背景就会非常低了,脱色120min基本上完全没有背景了,实际的染色效果参考图1。如果希望获得更加清晰的蛋白条带和更低的染色背景,可以加入约100ml去离子水室温洗涤更长时间甚至浸泡过夜,脱色时最好能每隔5-15min更换去离子水,以加快脱色速度。也可以使用加热的去离子水进行洗涤以加快脱色速度。或者也可以加入50ml的去离子水微波炉高火加热3min然后摇床摇动5min,随后进行常规脱色或再重复前述加热步骤一次再进行常规脱色以加快脱色速度。对于去离子水浸泡过夜的已经进行了染色的凝胶,可以再次使用考马斯亮蓝快速染色液染色并进行后续的脱色步骤,这样通常可以进一步改善染色效果,获得更好染色效果的蛋白条带。

注1:上述的洗涤、染色和脱色时间均适用于0.75-1.5毫米厚的凝胶,对于更厚的凝胶,洗涤、染色和脱色的时间均需适当延长。

注2:快速染色的18分钟步骤为,加入50ml去离子水微波炉高火加热3min,摇床摇动5min,弃液体后再染色10min,即可观察到50-100ng的条带。40分钟步骤为,微波炉高火加热3min一次后换去离子水后再微波炉高火加热3min,随后摇床摇动5min,弃液体后染色30min,检测灵敏度可达10ng。50分钟步骤为微波炉高火加热3min一次后换去离子水后再微波炉高火加热3min,随后摇床摇动5min,弃液体后染色10min,然后摇床脱色30min,此时背景会非常低,检测灵敏度约为50ng。150分钟步骤为,微波炉高火加热3min一次后换去离子水后再微波炉高火加热3min,随后摇床摇动5min,弃液体后染色30min,脱色约110min,检测灵敏度可达10ng并且完全没有可见的凝胶背景染色。

常见问题:

1. 无染色条带:可能上样量太少,建议电泳时上样适量的BSA等作为阳性对照。
2. 背景太高:可能凝胶中的杂质没有除尽,建议延长最初的去离子水洗涤时间或增加洗涤次数。也可以在完成染色后,参考脱色步骤多次更换去离子水反复进行脱色。在去离子水中浸泡过夜,通常也可以取得较好的脱色效果。
3. 染色条带的灵敏度不够理想:可以使用考马斯亮蓝快速染色液进行第二次染色,再次染色可以改善染色效果。适当延长染色时间可以提高检测灵敏度,另外用去离子水充分脱色也可以降低染色背景并显著提高染色的灵敏度。

使用本产品的文献:

1. Liang W, Cheng J, Liu R, Wang JP, Mu JG, Wang QH, Wang HJ, Ma D. Peptide corresponding to the C terminus of tissue factor pathway inhibitor inhibits mesangial cell proliferation and activation in vivo. *Peptides*. 2009;30(12):2330-6.
2. Yan L, Xu G, Qiao T, Chen W, Yuan S, Li X. CpG-ODN 7909 Increases Radiation Sensitivity of Radiation-Resistant Human Lung Adenocarcinoma Cell Line by Overexpression of Toll-Like Receptor 9. *Cancer Biother Radiopharm*. 2013 Sep;28(7):559-64.
3. Zhang HH, Pang M, Dong W, Xin JX, Li YJ, Zhang ZC, Yu L, Wang PY, Li BS, Xie SY. miR-511 induces the apoptosis of radioresistant lung adenocarcinoma cells by triggering BAX. *Oncol Rep*. 2014 Mar;31(3):1473-9.
4. Wang X, Zhao B, Li X. Dexmedetomidine attenuates isoflurane-induced cognitive impairment through antioxidant, anti-inflammatory and anti-apoptosis in aging rat. *Int J Clin Exp Med*. 2015 Oct 15;8(10):17281-8.
5. Xing N, Qiao T, Zhuang X, Yuan S, Zhang Q, Xu G. CpG oligodeoxynucleotide 7909 enhances radiosensitivity via downregulating Oct-4 expression in radioresistant lung cancer cells. *Onco Targets Ther*. 2015 Jun 12;8:1443-9.
6. Zhuang X, Qiao T, Xu G, Yuan S, Zhang Q, Chen X. Combination of nadroparin with radiotherapy results in powerful synergistic antitumor effects in lung adenocarcinoma A549 cells. *Oncol Rep*. 2016 Oct;36(4):2200-6.
7. Ma LM, Liang ZR, Zhou KR, Zhou H, Qu LH. 27-Hydroxycholesterol increases Myc protein stability via suppressing PP2A, SCP1 and FBW7 transcription in MCF-7 breast cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2016 Nov 18;480(3):328-333.
8. Zhang K, Zhu X, Lu Y. Effect of Mild Heating on Human Lens Epithelial Cells: A Possible Model of Lens Aging. *Sci Rep*. 2016 Oct 11;6:33917.

Version 2016.12.05