

## 常规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：

常规考马斯亮蓝染色试剂盒(Commassie Blue Staining Kit)采用了最经典的考马斯亮蓝 R250 染色和脱色新法，可用于 SDS-PAGE 或非变性 PAGE 等蛋白电泳凝胶的常规染色和脱色或 Western 转膜后 PAGE 胶上残余蛋白的检测。

常规考马斯亮蓝染色试剂盒中的染色液和脱色液经过改良，不含有毒的甲醇，含有刺激性气味的乙酸。采用常规染色脱色新法累计时间达到 2~3h 后可以观察到蛋白条带，采用快速染色脱色新法 20min 左右即可观察到蛋白条带。如果想观察到更清晰的蛋白条带则需延长染色、脱色时间。

### 产品组成：

产品名称	规格	保存条件	说明书	有效期
常规考马斯亮蓝染色试剂盒	600ml	RT	1 份	1 年
试剂(A): Commassie Blue Stain	100ml	RT	1 份	1 年
试剂(B): Commassie Blue 脱色液	500ml	RT	1 份	1 年

### 自备材料：

- 1、水平摇床或侧摆摇床
- 2、蒸馏水
- 3、20%甘油水溶液

### 操作步骤(仅供参考)：

#### (一)常规染色脱色方法

- 1、PAGE 电泳后取凝胶放入适量 Commassie Blue Stain 中，确保染色液充分覆盖凝胶。
- 2、置于水平摇床或侧摆摇床上缓慢摇动，室温染色 1h 或更长时间。具体的染色时间取决于凝胶的厚度和染色时的温度。凝胶较厚，温度较低，则染色时间宜适当延长。凝胶较薄，温度较高，则染色时间可以适当缩短。通常染色至凝胶的颜色和染色液的颜色非常接近，在染色液中几乎看不清凝胶时，可以认为已染色充分。染色 2~4h 或更长时间可能会对最终的染色效果产生负面影响。
- 3、倒出染色液，该染色液可以回收重复使用 2~3 次。
- 4、加入适量 Commassie Blue 脱色液，确保脱色液可以充分覆盖凝胶。
- 5、置于水平摇床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。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。

6、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胀。如需避免溶胀，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。

## (二)快速染色脱色方法

1、PAGE 电泳结束后取胶放入 Commassie Blue stain 中，微波炉加热至接近沸腾或刚刚沸腾，立即停止加热。通常对于胶浓度大于 10%的胶比较坚韧，在发生煮沸时易破损；对于胶浓度小于 10%的胶，宜尽量避免煮沸，以免出现胶碎裂的情况。

2、随后在染色液温度较高的情况下，在室温摇床上摇动 5~10min。

3、倒出染色液，染色液可以回收重复使用 2~3 次。

4、加入适量 Commassie Blue 脱色液，确保脱色液可以充分覆盖凝胶。

5、微波炉加热至接近沸腾或刚刚沸腾，立即停止加热。

6、随后在脱色液温度较高的情况下，在摇床上摇动 5~10min。此时通常可以观察到比较清楚的蛋白条带。

7、更换新鲜的脱色液，重复步骤 5 和步骤 6，直至蓝色背景基本上全部被脱去，蛋白条带染色效果达到预期。

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胀。如需避免溶胀，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、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。

3、常规染色脱色新法耗时较长，但检测灵敏度更高，染色效果更加稳定。快速染色脱色新法通常检测灵敏度略低，并且在微波炉加热的过程中有时会出现暴沸导致凝胶碎裂的情况，需特别注意。另外微波炉加热导致的高温会引起染色液和脱色液中的乙酸的挥发。

4、本染色液呈酸性，有轻微腐蚀性，使用时请作必要防护。

5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。