

CAT#:81224-100

常温运输，4℃避光保存

TIANDZ

碱性磷酸酶 BCIP/NBT 显色试剂盒

BCIP/NBT Chromogenic Kit

使用手册 V2.0

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

产品及特点	BCIP 即 5- 溴 -4- 氯 -3- 吲哚 - 磷酸盐 （ 5-bromo-4-chloro-3-inodlyl-phosphate）。NBT 即四唑淡蓝（Nitro-Blue-Tetrazolium），为深蓝色无定形微溶物质。当二者存在时，在碱性磷酸酶（Alkaline phosphatase, AP）作用下，NTB 被还原形成不溶性的蓝色（在硝酸纤维素膜上）或紫色（在尼龙膜上）沉淀，据此颜色反应来鉴定碱性磷酸酶。该反应的示意图如下： The diagram illustrates the enzymatic reaction of BCIP and NBT. BCIP (5-bromo-4-chloro-3-indolyl-phosphate) is hydrolyzed by alkaline phosphatase (AP) to release inorganic phosphate (PO_4^{3-}) and form an indole intermediate. This intermediate then reacts with another BCIP molecule to form an indigo dye. Simultaneously, NBT (Nitro-Blue-Tetrazolium) is reduced by the indole intermediate (releasing 2H) to form a purple formazan precipitate. The chemical structures for BCIP, NBT, and formazan are shown. 本产品就是基于上述原理开发，它具有下列特点： 1. 即开即用，省去自配溶液的麻烦。 2. 条件经过优化,最低可以检测到 0.5fmol 的靶分子（在硝酸纤维素膜上），并且背景低，不需要自己摸索。 3. 与硝酸纤维素膜和尼龙膜兼容，也可用于琼脂糖凝胶原位杂交。 4. 适用于中等灵敏度检测各种印迹膜检测,包括 Southern 杂交、Northern 杂交、Western blot 沉淀、免疫组化等。如果要高灵敏度检测，最好使用 ECL 检测。 5. 肉眼观察实验结果，直观简单，不需要额外的试剂和仪器。															
规格及成分	<table><tr><th>成份</th><th>编号</th><th>100 mL 塑料袋包装</th></tr><tr><td>25×BCIP</td><td>81224B</td><td>1 mL</td></tr><tr><td>25×NBT</td><td>81224A</td><td>1 mL</td></tr><tr><td>AP 缓冲液，10×</td><td>81224C</td><td>50 mL</td></tr><tr><td>使用手册</td><td>81224sc</td><td>1 份</td></tr></table> 注意：本产品可以配制 100mL BCIP/NBT 显色液，具体使用次数与膜的大小密切相关。	成份	编号	100 mL 塑料袋包装	25×BCIP	81224B	1 mL	25×NBT	81224A	1 mL	AP 缓冲液，10×	81224C	50 mL	使用手册	81224sc	1 份
成份	编号	100 mL 塑料袋包装														
25×BCIP	81224B	1 mL														
25×NBT	81224A	1 mL														
AP 缓冲液，10×	81224C	50 mL														
使用手册	81224sc	1 份														
运输及保存	常温运输，4℃避光保存，有效期一年。															
自备试剂	超纯水、结合有 AP 标记的探针或抗体的印迹膜															
使用方法	一：配制溶液 1. 按每 cm^2 印迹膜需要 0.1mL BCIP/NBT 显色液的比例计算所需显色液的用量，并按下表的配方配制的所需量的 BCIP/NBT 显色液待用。说明：下表以															

	10 mL 为例，用户需要根据计算得到的所需显色液体积按比例增减各成分用量。 <table><tr><th>成份</th><th>用量</th></tr><tr><td>超纯水</td><td>9 mL</td></tr><tr><td>AP 缓冲液，10×</td><td>1 mL</td></tr><tr><td>BCIP 溶液</td><td>50 uL</td></tr><tr><td>NBT 溶液</td><td>50 uL</td></tr></table> 注意：此溶液必须在 1 小时内使用。 2. 用 10×AP 缓冲液配制跟 NBT-BCIP 显色液等体积的 1×AP 缓冲液待用。 二：显色 3. 同钝头镊子将印迹膜浸入到新鲜配制的 1×AP 缓冲液中，脱色摇床上摇晃 5 分钟。本方法也可以用于琼脂糖凝胶原位杂交，处理方法一样，只是把经过 AP 标记探针或抗体杂交的印迹膜改成经过 AP 标记探针或抗体杂交的凝胶。 4. 同钝头镊子将印迹膜浸入到新鲜配制的 BCIP/NBT 显色液中（每 cm² 印迹膜需要 0.1 mL BCIP/NBT 显色液），室温避光静置显色直到看见所需条带。在硝酸纤维素膜上，条带将呈现蓝色；在尼龙膜上，条带将呈现紫棕色。注意：显色过程中不要摇晃，否则有色沉淀物不容易聚集。高丰度的靶分子可能只需 5-30 分钟显色，低丰度的靶分子可能需要 24 小时显色。显色反应一般会在 24 小时结束，所以显色时间没有必要超过 24 小时。37℃ 放置可加速显色反应，缩短显色时间。 5. 显色结束后，将印迹膜转移到盛有超纯水的托盘中摇晃以终止显色反应。数分钟后需要换水，共三次。 6. 用吸水纸吸干膜上的水分，照相或扫描处理后避光干燥保存印迹膜。对硝酸纤维素膜，如果用二甲苯将膜浸湿，则条带会增强约 5 倍（膜变得透明，使背景变低，条带更明显所致）。 7. 如果不避光保存条，印迹膜上的条带会逐渐褪色。硝酸纤维素膜上的颜色不能脱去，如果想脱去尼龙膜上条带的颜色，可以将膜浸入到装在玻璃容器的 DMF 溶液中，再进行热水浴直到颜色脱去（需要在通风柜中进行）。硝酸纤维素膜上的条带不能脱去。	成份	用量	超纯水	9 mL	AP 缓冲液，10×	1 mL	BCIP 溶液	50 uL	NBT 溶液	50 uL
成份	用量										
超纯水	9 mL										
AP 缓冲液，10×	1 mL										
BCIP 溶液	50 uL										
NBT 溶液	50 uL										
关联产品	碱性磷酸酶 ECL 检测试剂盒										