

BCIP/NBT Alkaline Phosphatase Color Development Kit

碱性磷酸酶显色试剂盒 BCIP/NBT

产品编号: MA0197 规格: 100ml

产品内容

产品组成	体积
碱性磷酸酶显色反应缓冲液	100 ml
100×BCIP 溶液	1050μl
150×NBT 溶液	700μl

保存方法

2-8°C保存, 100×BCIP 溶液和 150×NBT 溶液需避光保存, 一年有效。

产品简介

本试剂盒应用于胚胎干细胞 (ES) 和诱导多功能干细胞 (iPS) 的鉴定, 以及免疫组化、免疫印迹等实验中的碱性磷酸酶显色。试剂盒内的 5-溴-4-氯-3-吲哚磷酸盐 (BCIP) /硝基四氮唑蓝 (NBT) 是碱性磷酸酶 (AP) 的常用底物之一, BCIP 在 AP 的催化下会被水解生成强反应性产物, 后者与硝基四氮唑蓝 (NBT) 反应生成不溶性产物, 使之呈现深蓝色至蓝紫色。

操作步骤

1. AP显色工作液的配制:

取20μl 150×NBT溶液加入到3ml碱性磷酸酶显色反应缓冲液, 充分混合均匀, 再加入30μl 100×BCIP溶液, 配置成工作液, 如需改变工作液体积, 可按相同比例适量配制。1h内使用。

2. 显色步骤:

- 检测细胞的内源性碱性磷酸酶: 吸出培养基, PBS润洗3次, 加入4%多聚甲醛固定1-2min。吸出固定液, 使用TBST清洗三次, 加入显色工作液, 室温避光孵育5-30分钟, 如孵育30min时没有显色, 孵育时间可延长至24h, 持续观察直至显色至预期深浅后, 用PBS润洗1次, 然后保存于PBS溶液中, 显微镜下观察结果。
- 检测组织切片或膜上结合的碱性磷酸酶抗体: 使用洗涤液洗涤完后, 加入适量工作液, 保证完全覆盖样品表面, 室温避光孵育5-30分钟, 如孵育30min时没有显色, 孵育时间可延长至24h, 持续观察直至显色至预期深浅后, 去除工作液, 用蒸馏水清洗1-2次终止显色反应。

注意事项

- BCIP和NBT对人体有刺激性, 请注意适当防护。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。