

Soluções para Eletroforese

Tris (2M)

Tris	24,2g	
H ₂ O	50ml	qsp 100ml
HCl	pingar até atingir pH8,8	

Tris (1M)

Tris	12,1g	
H ₂ O	50ml	qsp 100ml
HCl	pingar até atingir pH6,8	

Solução A

Acrilamida	29,2g	
Bis-acrilamida	0,8g	qsp 100ml

Solução B

Tris-HCl (2M)	75ml	
SDS 10%	4ml	qsp 100ml
H ₂ O	21ml	

Solução C

Tris-HCl (1M)	50ml	
SDS 10%	4ml	qsp 100ml
H ₂ O	21ml	

Solução D

Persulfato de Amônio (PA) 10%

0,5g persulfato de amônio	H ₂ O qsp 5ml
1,0g persulfato de amônio	H ₂ O qsp 10ml
5,0g persulfato de amônio	H ₂ O qsp 50ml
10,0g persulfato de amônio	H ₂ O qsp 100ml

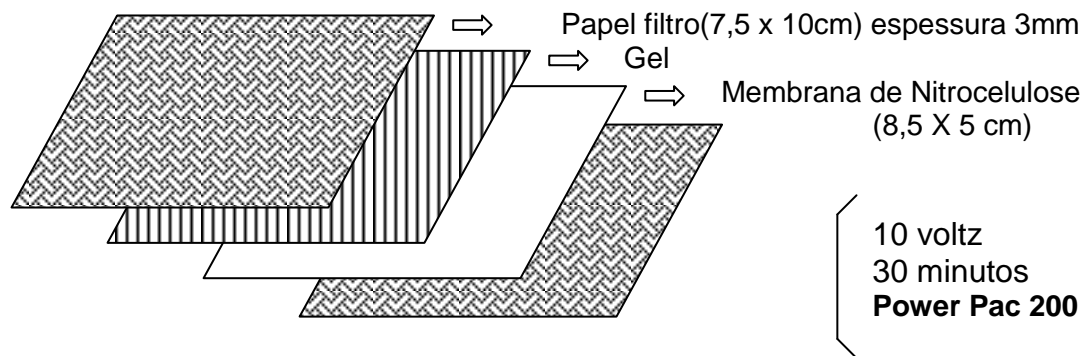
Tampão de Corrida [10x]

Tris (25mM)	30g	
Glicina (192mM)	144g	qsp1L
SDS (0,1%)	10g	

Solução Descorante

Ácido Acético (5%)	150ml	
Metanol (10%)	300ml	qsp 3L
H ₂ O	2550ml	

Transferência



Tampão de Transferência (Towbin)

Tris3,03 gr
Glicina14,4 gr
Metanol200 ml

qsp 1 L de H₂O

- Corar a membrana de nitrocelulose (Ponceau S).
- Descorar com PBS ou TBS.
- Recortar o padrão e corar (Amido Black).
- Descorar com ácido acético 7%.
- Marcar a membrana com risco de caneta na parte inferior.
- Recortar a membrana (3mm).
- **Bloquear** a membrana (mínimo 1 hora), com:
 - BSA 2,5%
ou
Leite 5,0%) PBS-Tween 0,05%
 - ou Leite 0,1% em PBS com inibidor de protease
- **Lavar** a membrana com PBS-Tween (3 x 5 min ou 2 x 10 min).
- **Incubar** anticorpo (soros “overnight” em PBS Tween).
- **Lavar** a membrana com PBS-Tween (3 x 5 min ou 2 x 10 min).
- **Conjugado** (em PBS-Tween, por 1 hora).
- **Lavar** a membrana com PBS-Tween (3 x 5 min ou 2 x 10 min).
- **Revelar** (4 cloro-1 naftol).

Amido Black

Amido Black 10 mg
Metanol 4,5 ml qsp 10 ml de H₂O
Ácido Acético 1,0 ml

Ponceau S

Ponceau 0,2 %
Ácido Acético 1,0 %

4 cloro – 1 naftol

4 cloro – 1 naftol6 mg
Metanol2 ml
PBS ou TBS10 ml
H₂O₂ - 30%10µl

DAB

DAB..... 10 mg
PBS..... 10 ml
H₂O₂ 30%..... 15 µl