**Procedimiento para teñir membranas de nitrocelulosa con CPTS (tinción reversible)**

**Soluciones:**

**Sensitizer**

* Para preparar 1 L:
  + Agregar 370 µL de HCl concentrado a 1000 mL de agua MQ o desionizada.
  + Guardar a temperatura ambiente.

**Stain**

* Para preparar 100 mL:
  + Pesar 50 mg de CPTS (Copper(II) phthalocyanine 3,4’,4’’,4’’’-tetrasulphonic acid, tetrasodium salt, ALDRICH Cat. 245356) y aforar a 100 mL con solución sensitizer.
  + Guardar a 4 °C.

**Eraser (pH 12.5)**

* Preparar las siguientes soluciones:
  + KCl 0.2 M
  + NaOH 0.2 M
* Para preparar la solución **Eraser**, mezclar 50 mL de KCl 0.2 M y 40.8 mL de NaOH 0.2 M.
  + Guardar a temperatura ambiente.

**Procedimiento de tinción con CPTS (para verificar transferencia de proteínas). Procedimiento para membranas de 8x10 cm.**

1. En un recipiente de plástico limpio del tamaño de la membrana de nitrocelulosa, colocar la membrana a teñir y agregar 50 mL de la solución Sensitizer. Incubar en agitación durante 2-5 min.
2. Tirar la solución sensitizer y agregar 30 mL de la solución stain e incubar 5 min en agitación.
3. Cuando las proteínas se hayan revelado, recuperar la solución stain en un recipiente diferente y lavar la membrana 3 veces con 30 mL de la solución sensitizer para eliminar el fondo (si la después del tercer lavado la solución de lavado sigue azul, realizar lavados adicionales). Descartar la solución de cada lavado.
4. Dejar secar la membrana sobre papel filtro. Una vez seca puede ser escaneada.
5. Para desteñir la membrana, colocarla nuevamente en el recipiente de plástico e incubar con 30 mL de solución Eraser hasta que las proteínas se hayan desteñido.
6. Si se desea hacer Western blot, una vez desteñida la membrana se puede proceder con el bloqueo de la misma.

NOTAS: La solución Stain puede reusarse, sin embargo, hay que cuidar que la solución usada se conserve a 4°C para evitar la formación de hongos. Si se observan partículas suspendidas en la solución Stain usada, descartar la solución ya que esas partículas se adhieren a la membrana y afectan el resultado de la tinción.