

此为临时链接，仅用于预览，将在短期内失效。

荧光WB实验方案及如何使用二抗

abcam abcam 2018-03-21

请关注： [↑ Abcam 助您尽快实现研究使命](#)



获取您的荧光WB方案。了解如何使用IRDye®二抗，封闭，抗体稀释，孵育时间，洗涤步骤和成像以获得荧光免疫印迹中清晰的条带。

应用IRDye® 二抗的荧光蛋白印迹是可以定量的，并且提供比基于酶的方法更宽动态范围，使其成为量化相对蛋白质丰度的最佳选择。有关样品制备，运行凝胶以及将凝胶中的蛋白质转移至膜上的指导，请参阅我们的[常规western blot方案](#)。

封闭与一抗孵育

- 将膜浸没在高质量的TBSbased 封闭缓冲液（BB）。孵育1小时。
- 使用稀释液（50%BB，50%TBS0.1%吐温20（TBST））稀释抗体。
- 将膜浸没在10ml配好的一抗孵育液中，放在摇床上孵育。建议使用浓度梯度时间梯度来确认最佳稀释比例和孵育时间。

洗膜并准备二抗

- 去除一抗孵育液并开始洗涤步骤。
- 洗膜液使用 TBST，先快速冲洗2次，然后充分洗膜3次，室温，每次15分钟。
- 洗膜时，配置二抗孵育液，根据建议（见下表1）稀释二抗。确保二抗孵育液充分混匀。荧光二抗都是光敏感的，孵化时应避光。
- 去除TBST并孵育二抗，放置在摇床上，避光孵育1小时。
- 孵育后，去除二抗孵育液，重复第2步的洗膜步骤。

表1：二抗与稀释度

一抗宿主物种	货号	二抗名称	建议稀释比例
--------	----	------	--------

此为临时链接，仅用于预览，将在短期内失效。

Rabbit	ab216773	Goat anti-Rabbit IgG H&L (IRDye® 800CW) preadsorbed	1:10,000
	ab216777	Goat Anti-Rabbit IgG H&L (IRDye® 680RD)	1:10,000
Mouse	ab216772	Goat anti-Mouse IgG H&L (IRDye® 800CW) preadsorbed	1:10,000
	ab216776	Goat anti-Mouse IgG H&L (IRDye® 680RD) preadsorbed	1:10,000

[查看其它IRDye® 抗体](#)

成像

- 使用无绒棉布沾取70%乙醇清洁扫描区。
- 如果扫描干燥的膜，将膜放在两张滤纸之间，并用箔片覆盖，在工作台上放置过夜。将蛋白面朝下放置在扫描区，膜上方压上硅胶垫，以确保膜平放在玻璃上。不需要滚筒。
- 如果扫描湿润的膜，则蛋白面朝下放置在扫描区，滴取5ml TBST覆盖整个扫描区。在膜上放置硅胶垫，用滚筒去除气泡。组蛋白检测用湿膜扫描效果很好。
- 盖上设备，根据设备使用说明进行相应的扫描。扫描后，将膜取下，并使用无绒棉布沾取70%乙醇清洁扫描区。

[阅读原文](#)