

## 操作步骤：

- 1、将二抗反应后的转印膜经洗膜液洗涤后备用，保持转印膜不要干燥；
- 2、将 Peroxide Solution 和 Luminol/enhancer Solution 按照 1:1 进行混合。每 0.1mL 底物发光液/cm<sup>2</sup> 膜，(5cmx8cm 的膜需要底物发光液约为 4mL)。然后将膜置于底物发光液中 3~5min ( 必须保证膜的表面全部浸入到底物发光液中，没有气泡，保证膜不干燥 )；
- 3、将膜从底物发光液中取出，将膜的一角与吸水纸接触，吸净膜表面的发光液。为了防止膜干燥，可以用保鲜膜将转印膜包住，并清除保鲜膜和转印膜之间的气泡；
- 4、图像检测：对转印膜进行化学发光检测。

## 注意事项：

- 1、实验用品应该专一，避免交叉污染；
- 2、实验过程避免强光直射；
- 3、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

## Western blot 常见问题及解决方法

出现问题	可能原因	解决方案
没有信号	a 曝光时间太短	增加曝光时间
	b 底物孵育之后，膜已经干燥	使用热封袋防止膜干燥
	c 底物没有活性	将试剂保存在合适的温度
	d 一抗没有结合活性	将抗体保存合适的温度下，防止细菌污染和热失活，及反复冻融
		抗体的浓度太低，在实验中增加抗体量
		结合的不充分，需要增加一抗结合的时间
信号很差	f 很少或者没有抗原结合到膜上	Tween20 可能将抗原从膜上洗脱，可以在体系中降低 Tween20 的量
		检查转膜的技术、仪器及缓冲液
		用蛋白染料对膜进行染色，如丽春红染液确保转膜完全
	a 检查以上的各个问题	
背景高	b 样品量不足	加入更多的样品量
	c 叠氮化合物抑制 HRP	不使用叠氮过氧化物来抑制溶液的细菌污染
	a 曝光时间太长	减少曝光时间
	b 封闭不充分	增加封闭的时间和封闭液的用量
	c 清洗不够充分	Tween20 能够降低背景的荧光值，可以将浓度增加至 0.3%并增加清洗的次数和时间
	d 二抗的浓度过高	根据说明进行稀释，或者通过梯度稀释实验确定

	e 转膜过程中污染	参阅杂交实验仪器手册上的建议
信号高	f 溶液或者缓冲液污染	去离子水配制溶液之前，通过灭菌锅或者过滤灭菌
		避免细菌的污染需要将溶液放置到合适的温度
	a 蛋白载量过大	减少凝胶电泳的上样量
	b 抗体量太多	选择合适的抗体浓度
	c 错误的凝胶电泳和条件	检测凝胶和溶液配制条件的选择
	d 与底物的孵育时间不合适	减少孵育的时间

**储存条件：**4-25°C避光保存 18 个月。

产品组分	包装规格
发光液 A (棕色瓶包装) Luminol/Enhancer Solution	25 mL
发光液 B (白色瓶包装) Peroxide Solution	25mL
说明书	1 份



Discover more at [apexbio.com.cn](http://apexbio.com.cn)

Technical Hotline: 010-56315135



## 超敏化学发光底物液

High-Performance

Luminol Substrate Solution

Cat# A020326

# 使用手册

**北京爱普拜生物技术有限公司**

Apexbio Biotechnology (Beijing) Co., Ltd.

北京亦庄经济开发区科创六街 88 号

No. 88, Kechuang Six St., BDA, Beijing