

用户指南

IMMOBILON® 信号增强剂

目录号WBSH0500

产品简介

Immobilon®信号增强剂专用于信号强度较低的Western免疫印迹应用。这种即用型试剂兼具信号放大和封闭功能,可通过增强抗体-抗原反应,使产生的信号强度比传统试剂强2-10倍。该试剂适用于传统免疫检测或SNAP i.d.®蛋白质检测系统的膜封闭和抗体稀释步骤。Immobilon®信号增强剂可兼容PVDF和硝酸纤维素印迹膜,适用于显色法、化学发光法和荧光检测方法。

对于信号足够强,但一抗珍贵且有限的情形,使用Immobilon®信号增强剂可减少一抗用量。

Immobilon® 信号增强剂仅供研究使用,不可用于诊断操作。

包装内容物

Immobilon® 信号增强剂, 目录号WBSH0500, 500 mL

保存条件/保质期

保存于2-8 °C。参见产品标签上标注的有效期限。

使用指南

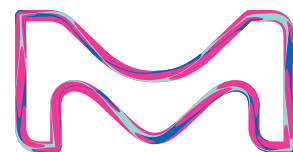
- 为确保产生足够的信号放大,必须使用Immobilon®信号增强剂作为封闭液以及一抗和二抗稀释液。
- 与SNAP i.d.®蛋白质检测系统一起使用时,应参阅其用户指南关于试剂体积和实验方案的详细说明。Immobilon®信号增强剂可替代传统的封闭液和抗体稀释液。
- 建议使用Immobilon®-FL转印膜(目录号IPFL00010)进行荧光检测。
- Immobilon®信号增强剂会使一些预染分子量marker的信号增强。因此,建议将预染marker的用量减少50-70%(如:使用1X上样缓冲液按1:10稀释marker,并取3-5µL上样到SDS-PAGE凝胶上)。
- 确保使用特异性好的目标蛋白一抗。
- 为避免产生高背景,始终佩戴手套处理转印膜。
- 使用平头镊子(目录号XX6200006P)夹取转印膜,避免膜撕裂或留下夹痕。

所需材料 (自备)

- 印迹膜
- 一抗
- 一抗的特异性标记二抗
- 洗涤液:含Tween®20表面活性剂的Tris缓冲生理盐水, pH 7.4 (TBST), 或等效物 (如, 50 mM Tris HCl, 150mM NaCl, 0.1% Tween®20表面活性剂)

操作步骤

1. 加入足量的Immobilon®信号增强剂覆盖膜表面,以封闭印迹膜。
2. 将印迹膜孵育一定时间(通常为1小时),其间轻轻摇动。
3. 使用Immobilon®信号增强剂将一抗稀释至所需浓度。
4. 倒出封闭液并加入稀释的一抗溶液,孵育印迹膜一定时间(通常为1小时),其间轻轻摇动。
5. 移除一抗溶液。
6. 使用TBST洗膜3-4次,每次至少5分钟。
7. 使用Immobilon®信号增强剂将二抗稀释至所需浓度。
8. 最后一次洗涤后,丢弃缓冲液并加入稀释的二抗溶液。
9. 将印迹膜孵育一定时间(通常为1小时),其间轻轻摇动。
10. 移除二抗溶液,然后使用TBST洗膜3-4次,每次至少5分钟。
11. 继续进行下一步印迹膜检测。



使用效果

图1. Immobilon®信号增强剂的信号放大作用

将经EGF刺激后A431细胞的裂解物按2倍做系列稀释上样于SDS-PAGE并电泳分离,然后转印至Immobilon®-P或Immobilon®-FL膜上。使用5%脱脂奶粉或Immobilon®信号增强剂封闭印迹膜。

使用相应试剂并以相同的稀释比例分别稀释一抗(兔抗Akt抗体,目录号05-796,以及小鼠抗PKC抗体,目录号05-983)和标记二抗。在相同条件下对比所有印迹结果。

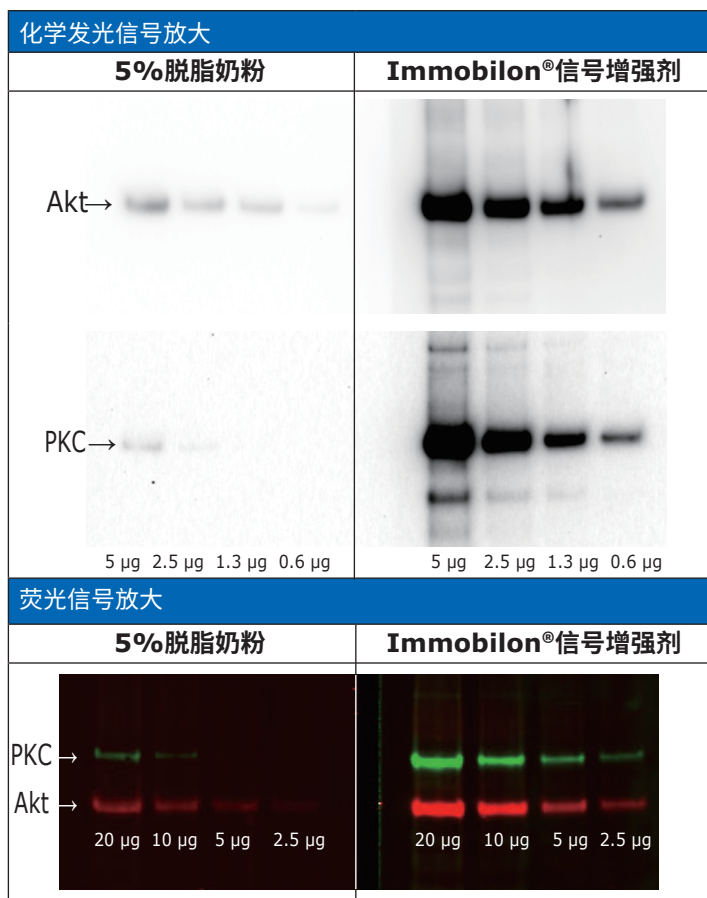
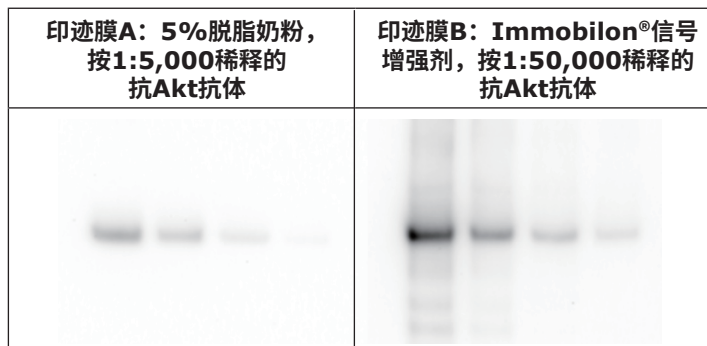


图2. 减少抗体使用量

印迹膜A:使用溶于TBST的5%脱脂奶粉作为封闭液和抗体稀释液。抗Akt抗体按1:5,000的比例稀释。

印迹膜B:使用Immobilon®信号增强剂作为封闭液和抗体稀释液。一抗用量减少至1/10,因此,可按1:50,000的比例稀释。



废物处理

按照所有适用的国际、联邦、州和当地法规,收集和处使用过的材料。

安全数据表

安全数据表(SDS) 详见公司网站:访问www.millipore.com,并在搜索栏内输入货号即可获取。

产品订购信息

名称	数量/包装	目录号
试剂		
Immobilon®信号增强剂	500 mL	WBSH0500
转印膜		
Immobilon®-E PVDF, 0.45 μm, 26.5 x 187 cm卷膜	1	IEVH00005
Immobilon®-P PVDF, 0.45 μm, 26.5 x 375 cm卷膜	1	IPVH00010
Immobilon®-P PVDF, 0.45 μm, 7 x 8.4 cm预切膜片	50	IPVH07850
Immobilon®-P PVDF, 0.45 μm, 8.5 x 13.5 cm预切膜片	10	IPVH08130
Immobilon®-FL PVDF, 0.45 μm, 26.5 x 375 cm卷膜	1	IPFL00010
Immobilon®-FL PVDF, 0.45 μm, 7 x 8.4 cm预切膜片	10	IPFL07810
Immobilon®-P ^{SQ} PVDF, 0.2 μm, 26.5 x 375 cm卷膜	1	ISEQ00010
Immobilon®-P ^{SQ} PVDF, 0.2 μm, 7 x 8.4 cm预切膜片	50	ISEQ07850
配件		
滤膜专用镊子, 平头	3	XX6200006P
抗体		
一抗和二抗	参见 www.millipore.com/antibodies	

注意

内容如有变更,恕不另行通知,且不得视为MERCK Millipore Corporation (“Millipore”) 或其子公司的承诺。MERCK Millipore Corporation及其子公司对于本文件中可能出现的任何错误不承担任何责任。

技术支持

如需了解更多信息,请联系就近办事处。中国地区用户,请致电**400-889-1988-2**分机。其他地区用户,可访问网站www.millipore.com/offices获取最新全球联系方式。您也可以发邮件至asiatechserv@merckgroup.com咨询。

质保

本出版物中所列产品的适用保修情况,请见www.millipore.com/terms (“销售条款”)。

M商标、Millipore、Immobilon和SNAP i.d.均为德国达姆施塔特默克集团的注册商标。第三方的所有商标均为其各自所有者的财产。

©2016 MERCK Millipore Corporation, 保留所有权利。

WBSH050Q Ver. 1.0, 09/16