



AP Western显色检测试剂盒

(AP Western Detection Kit)

产品说明:

AP Western显色检测试剂采用BCIP/NBT为底物，可由标记于二抗上的碱性磷酸酶催化，产生化学呈色反应，在蛋白转印膜阳性蛋白条带处形成蓝紫色沉淀。

产品内容与储存方法:

名称	数量	保存条件
Reaction Buffer	100 ml	4°C
BCIP	1 ml	4°C
NBT	1 ml	4°C

可作20~200次检测。常温运输，4°C保存（BCIP和NBT需避光）。有效期6个月。

操作方法:

- 1) 按常规操作，将蛋白样品进行SDS-PAGE电泳，转膜（硝酸纤维素膜和PVDF膜均可使用）。封闭30~120 min，一抗孵育1小时或过夜；漂洗3~5次，碱性磷酸酶标记二抗孵育30~120 min，漂洗3~5次。如上述步骤采用磷酸缓冲液，需换用Tris缓冲液漂洗3~5次以完全去除磷酸成分。
- 2) 按每10 ml Reaction Buffer各加入0.1 ml BCIP和0.1 ml NBT的比例，新鲜配制适量的显色液。
- 3) 倾去清洗液，根据膜和容器的大小，加入0.5~10 ml 显色液，使液体完全覆盖蛋白膜，室温孵育5~15 min。注意观察膜上条带呈色情况。
- 4) 待蛋白膜上条带呈色明显，而无明显背景时，用蒸馏水漂洗膜。将膜置于吸水纸上晾干。可用合适的照相器材直接记录蛋白膜的图像。