



WB 快速孵育抗体稀释液（免封闭）

产品货号	产品名称	包装
DW1065	WB 快速孵育抗体稀释液（免封闭）	500ml

—— 1 小时替代过夜，一步孵育，无需封闭。

1. 产品名称与概述

产品概述：本产品是一种创新性的多功能抗体孵育工作液，专为 Western Blot 实验设计。它集成了快速反应增强、背景抑制和蛋白稳定功能，可直接用于一抗和二抗的稀释与孵育，完全省去独立的封闭步骤。核心特点是允许用户在室温下仅孵育 1 小时，即可获得与传统稀释液 4℃ 过夜孵育同等甚至更优的检测信号与信噪比，同时保持对传统过夜孵育方式的完全兼容性，也可以 4℃ 过夜，为实验者提供了极大的灵活性和效率提升。

2. 产品原理

本孵育液的基础是优化的生理相容性缓冲体系，并添加了以下关键组分：

反应增强剂：促进抗体与抗原的特异性结合，大幅缩短达到平衡结合所需的时间。

多功能背景抑制剂：在抗体孵育过程中同步、动态地占据膜上的非特异性位点，实现“孵育即封闭”的效果，有效降低背景。

稳定保护剂：保持抗体活性和抗原表位的稳定性，确保快速孵育条件下的反应效率。

3. 核心优势

极速高效：室温 1 小时完成一抗孵育，比常规过夜（12-16 小时）节省超过 90% 的时间。

效果卓越：专有配方确保快速结合与低背景，实验结果在信号强度、特异性和条带清晰度上均达到或超越常规过夜孵育水平。

一步简化：免去独立的封闭步骤，将封闭、一抗孵育、二抗孵育三步简化为两步，缩短总流程 2-3 小时，减少操作误差。

灵活兼容：完美兼容传统实验习惯，可根据样本需求自由选择室温快速孵育（1 小时）或 4℃ 过夜孵育。

经济通用：适用于所有基于膜（PVDF、NC 膜）的 Western Blot 实验，兼容小鼠、兔、山羊等多种来源的一抗/二抗。

4. 实验所需材料

*配胶及电泳全套

*已转印蛋白的 PVDF 膜或 NC 膜

*待检测的一抗

*对应的 HRP（或其它荧光）标记的二抗

*TBST 或 PBST 洗涤液

*摇床（室温及 4℃）

*显影/成像系统

5. 实验步骤

注意：以下步骤以 PVDF 膜为例。若使用 NC 膜，可省去甲醇活化步骤。

第一步：膜的准备工

- 1、转印结束后，将 PVDF 膜从转印夹中取出，可用丽春红染膜，确定蛋白是否转到膜上。

第二步：一抗孵育（免封闭）

请根据实验需求选择以下任一方案：

【方案 A：快速孵育法】（推荐用于大多数蛋白）

- 1、将膜完全浸入足量的一抗工作液中（确保完全覆盖）。
- 2、置于室温摇床上，以中速振荡孵育 60 分钟。

【方案 B：常规过夜孵育法】（推荐用于极低丰度蛋白）

- 1、同上配制一抗工作液。
- 2、将膜浸入一抗工作液。
- 3、置于 4℃冷库或冰箱内，在摇床上低速振荡孵育过夜（12-16 小时）。

提示：孵育后的一抗工作液可回收，于 4℃保存并重复使用 2-3 次（效果可能轻微减弱）。

第三步：洗涤

将膜从一抗工作液中取出，放入足量 TBST 中。在摇床上快速洗涤 3 次，每次 5 分钟。

第四步：二抗孵育（免封闭）

- 1、使用本孵育液，按照二抗说明书推荐的稀释比例（通常为 1:5000 至 1:20000）稀释 HRP 标记的二抗，配制二抗工作液。
- 2、将洗涤后的膜浸入二抗工作液中。
- 3、置于室温摇床上，以中速振荡孵育 30 分钟。

第五步：最终洗涤与检测

- 1、将膜从二抗工作液中取出，放入足量 TBST 中。在摇床上洗涤 3 次，每次 5 分钟。
- 2、按照所选显影底物（ECL 化学发光液等）的说明书进行后续显影/成像操作。
(推荐用壹步显影-单组份 ECL 发光液)

建议与注意事项：

- 1、抗体稀释：初次使用建议从抗体说明书推荐的常规稀释度开始，后续可根据信号强弱
- 2、进行优化。快速孵育法有时可采用稍低的稀释度（如降低 1.5-2 倍）以增强信号。
- 3、低丰度蛋白：对于表达量极低的靶蛋白，如果快速法信号偏弱，优先尝试改用 4℃过夜孵育，其次再考虑增加一抗浓度。
- 4、膜的选择：本产品对 PVDF 膜和 NC 膜均适用。PVDF 膜具有更高的蛋白结合容量和机械强度，为通用推荐。

本品在文章中的写法：

英文：Dowobio (Shanghai, China)

上海多沃生物科技有限公司 Dowobio, 上海