天净沙系列

CAT#:220753-2

低温运输，-20℃保存

印迹膜地高辛检测试剂盒(含抗体，DAB 显色法)

DIG Blot Detection Kit (Antibody Included, DAB)

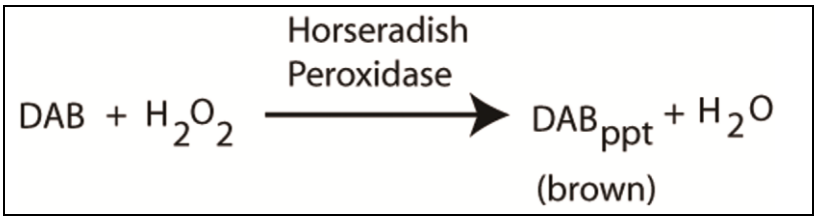
使用手册 V0.5

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品是印迹膜地高辛检测试剂盒(含抗体，DAB 显色法)，其反应原理是辣根过氧化物酶（HRP）可以催化底物 DAB 在 HRP 所在的位置转变为深褐色的化合物，可根据颜色的有无和深浅来检测 HRP 的存在与否或存在量，进而推测 HPR 标记物识别的地高辛的位置及含量。该反应的示意图如下：



本产品具有下列特点：

1. 即开即用，不需要用户准备任何材料。
2. DAB 以干粉提供，方便运输。
3. 可用于各种印迹膜（包括 Southern、Northern、Western 印迹膜）。
4. 跟 PVDF 膜、尼龙膜兼容。
5. 本产品足够配制 100 mL 染色工作液。一般足够 100 次染色，具体使用次数根据跟印迹膜的大小密切相关。
6. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品采用小扁盒包装

成份	编号	规格	包装
1%酪蛋白 PBS 封堵缓冲液	5-124	200 mL	250 mL 本色瓶
HRP-兔抗地高辛单克隆抗体	25-HRP-127-Digoxin	10 μL	0.5 mL 本色管
Western 洗膜液（10×）	230645	30 mL	60 mL 本色瓶
DAB 干粉	CAS7411-49-6	100 mg	1.5 mL 棕色管
DAB 溶解及反应液	6-C7411-49-6	100 mL	125 mL 本色瓶
DAB 增强剂	220753-2a	1 mL	1.5 mL 棕色管
双氧水	CAS7722-84-1	1 mL	1.5 mL 白盖管
使用手册	220753-2sc	1 份	-

运输及保存

低温运输，-20℃保存，有效期 1 年。

自备试剂

超纯水、地高辛标记物（抗体或探针）处理过的印迹膜

使用方法

注意：DAB 有毒性，处理时需要戴手套。

1. 待膜烘干冷却后 254 nm 紫外照射 3 分钟。
2. 使用 1%酪蛋白 PBS 封堵缓冲液水平摇床上封闭 1 小时。
3. 孵育 HRP 标签的地高辛抗体（1：2000 用封闭液稀释，可重复使用 1-5 次）2 小时。

4. 使用 Western 洗膜液（1：9 用超纯水稀释）洗膜 3 次，每次 5 分钟。

5. 在一干净的 5-10 mL 塑料瓶中加入 5 mL DAB 溶解及反应液，再将 100 mg DAB 干粉全部加入，充分振荡混匀，所得溶液即 20×DAB 浓缩液。此溶液如果一次不能用完，可以分装成小管在-20℃避光放置 6 个月。

6. 新鲜配制 DAB 溶解及反应液。按每 cm^2 印迹膜或每张切片需要 0.1 mL DAB 溶解及反应液的比例计算所需工作液的体积，并按下表配制（此处以配制 10 mL 工作液为例，用户如需要配制其他体积，可按比例增减各成分用量。本试剂盒提供的成份足够配制 100 mL 工作液）：

成份	用量
DAB 溶解及反应液	9.4 mL
20×DAB 浓缩液	0.5 mL
DAB 增强剂	0.1 mL
双氧水	10 μL
总体积	10 mL

7. 如果是印迹膜染色，则迅速将印迹膜转移到上步得到的 DAB 溶解及反应液中，室温避光静置，待印迹膜上出现满意的条带时（一般需要 2-3 分钟，最长不超过 10 分钟，具体跟靶分子浓度密切相关），迅速将印迹膜转移到盛有去离子水的托盘中摇晃，终止显色反应。数分钟后需要换水三次。最后用吸水纸吸干印迹膜上的水分，照相存档后避光干燥保存印迹膜。

关联产品 辣根过氧化物酶 TMB 显色试剂盒