

## 实验信息

假设:

日期:

样品来源:

靶蛋白:

裂解 / 提取缓冲液:

电泳条件:

• 凝胶体系和浓度:

• 蛋白分子量标准:

• 电压和电流:

• 运行时长:

凝胶上样布局

泳道	样品	上样量	泳道	样品	上样量

## 材料

- 转印膜
- 品牌:
- 膜类型: NC膜      PVDF膜
- 膜孔径: 0.22um      0.45um

• 转印缓冲液:

• 漂洗缓冲液:

• 封闭液:

• 孵育托盘和容器

• 一抗

抗体靶标:  
供应商和货号:  
批次号:

• 二抗

抗体靶标:  
供应商和货号:  
批次号:

• 化学发光 HRP 底物:

## 方案

1. 基于凝胶体系，制备用于湿转或半干转的转印缓冲液。
  2. 准备转印膜。
    - PVDF膜：在甲醇或乙醇（100%）中预湿30秒，然后用去离子水短暂冲洗，并在转印缓冲液中平衡5分钟。
    - 硝酸纤维素膜：直接在转印缓冲液中平衡5分钟。
  3. 将凝胶在水中漂洗1至5分钟以去除SDS，以便后续转印。
  4. 根据制造商的操作说明进行湿转、半干转或干转。
- 转印方法：
- 转印设备：
- 电压和程序：
- 转印时间：
- 附加转印备注：
5. 完成蛋白转印后，用去离子水摇动漂洗膜4次，每次5分钟，以去除转印缓冲液。

漂洗1      漂洗2      漂洗3      漂洗4

6. 在室温下用充足体积的封闭液摇动孵育膜30至60分钟。封闭液孵育时间：
7. 根据供应商的建议用封闭液稀释一抗。

一抗稀释比例：

抗体原液浓度：
8. 将膜的蛋白质面朝上，置于一抗溶液中，室温下摇动孵育1小时或在2-8°C下过夜孵育。确保抗体工作液的体积足以完全覆盖膜。

孵育时间：

孵育温度：

## 实验结果与观察

## 材料

9. 用漂洗缓冲液摇动漂洗膜3次，每次10分钟。

漂洗1      漂洗2      漂洗3

10. 用适当体积的漂洗缓冲液或封闭液稀释HRP二抗。

二抗稀释比例：

抗体原液浓度：

11. 将膜的蛋白质面朝上，置于二抗溶液中，在室温下摇动孵育1小时。确保抗体工作液的体积足以完全覆盖膜。
12. 在漂洗缓冲液中摇动漂洗膜6次，每次5分钟，以去除所有未结合的二抗。务必彻底漂洗膜。

漂洗1      漂洗2      漂洗3

漂洗4      漂洗5      漂洗6

13. 根据制造商的说明制备化学发光底物的工作溶液。建议体积为：每m<sup>2</sup>的膜大约需要0.1 mL工作溶液。
14. 使用常规ECL底物时，使用底物工作液孵育印迹膜1分钟；使用高性能底物时，孵育5分钟。

ECL底物：

底物孵育时间：
15. 用镊子将印迹膜从底物工作液中取出，并去除多余的液体。
16. 将印迹膜置于透明塑料薄膜或文件保护膜中，用气泡滚筒或玻璃吸管滚动去除气泡。
17. 对印迹进行成像。

凝胶成像系统

成像系统或显影剂：

曝光时间：

文件名称：

文件位置：

## 未来方向和后续实验

审核人：

审核日期：