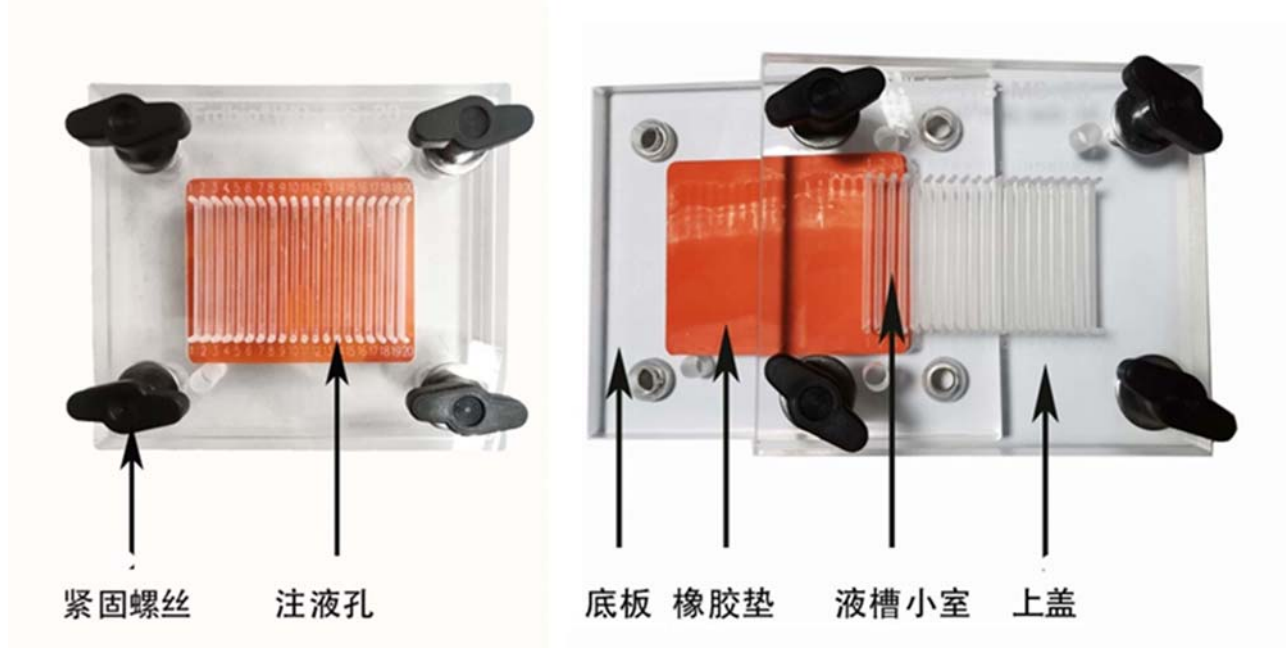


HT-Blot Western Blot 孵育器

免疫印迹实验（Western Blot）是目前实验室进行免疫检测最常用的实验方法之一。与 ELISA 实验方法相比，Western Blot 实验流程更繁琐，工作量更大，如果对多个样品同时进行检测，通常是将转印之后的膜一条条剪下，分别放入对应的一抗小孵育盒子或者杂交袋；漂洗之后再分别加入对应的二抗分别孵育；实验过程中需要在每张膜条上做标记，其工作量相当大，一旦标记错误或记录错误都会造成很大麻烦。

本孵育器采用物理分隔的方式将膜分格成小室，对应待孵育抗体通过注液孔直接注入小室孵育，不需要额外的孵育盒或者杂交袋，更免去剪膜和反复做记号的麻烦，可整张膜进行 Western Blot 实验，记录实验结果更完整和方便。



操作方法：

n 一抗孵育：

- 1、打开孵育器，将孵育器的上盖取下，底板放平，适当调整胶垫位置处于中心位置，并用封闭液将胶垫表面润湿；
- 2、将封闭好的整张膜（膜尺寸应该小于胶垫尺寸），轻轻平铺在胶垫上面，从一面轻轻赶走胶垫与膜之间的气泡；
- 3、将孵育器的上盖轻轻压在膜上，将长方形液槽一面与膜接触，膜上彩色 Marker 条带置于对应槽正中位置，均匀拧紧四角紧固螺丝（紧固到液孔槽加入液体不流出或者流串到其他液孔槽为宜），液孔槽与膜之间形成空腔液槽小室；
- 4、将对应抗体工作液分别通过对应液槽背面任意一端的注液孔轻轻注入液槽小室，抗体工作液一般的注入量不超过液槽小室总容积的 3/4；
- 5、抗体工作液注入之后可将整个孵育器平放在摇床震荡孵育（振幅不可过强），也可以平放在合适的温度静置孵育；
- 6.孵育完成后，将孵育器向任一注液孔侧倾斜，将抗体工作液倒掉，吸尽孔缘残留抗体工作液；
- 7.从另一侧注液孔分别加入洗涤液，尽可能加满（注意不要串孔），浸泡 3-5 分钟按照步骤 6 倾倒入抗体工作液的方法倾倒洗涤液；
- 8.重复步骤 7，3-5 次；

n 二抗孵育

如果整张膜所使用的二抗相同，此时可将孵育器拆开展取出整张膜在孵育盒中进行二抗孵育。

- 9.倾倒入洗涤液，并吸干孔缘残液，通过注液孔分别注入对应二抗，重复步骤 5-8。

n 底物显色

10. 松开**紧固螺丝**，取下**上盖**，拆开**孵育器**，取下整张膜放在洗涤液里洗涤 3 次；
11. 膜平放在干净显色板上，加入底物曝光或通过化学发光仪拍照记录图片。

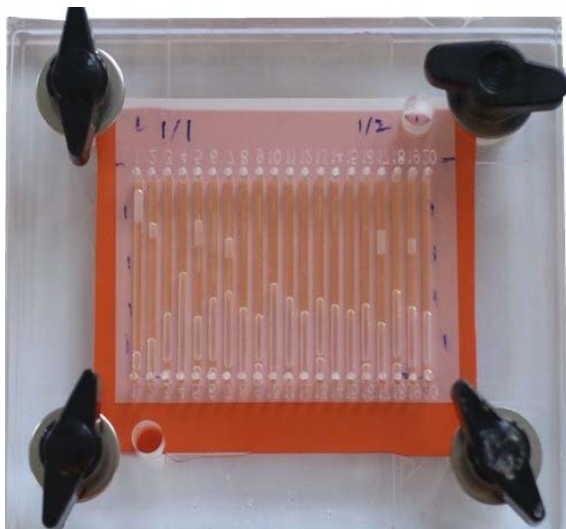


图 1. 实验外观图

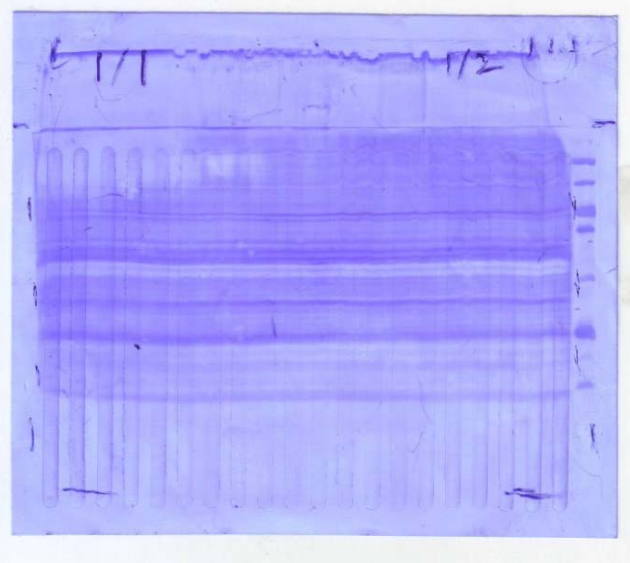


图 2. 凝胶转膜后染色与实验后膜(膜道压痕)

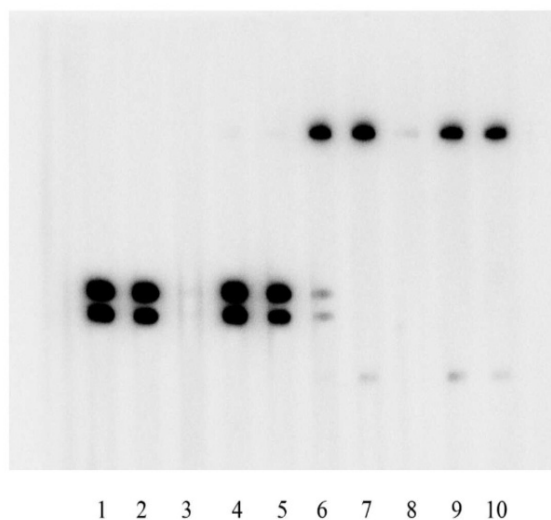
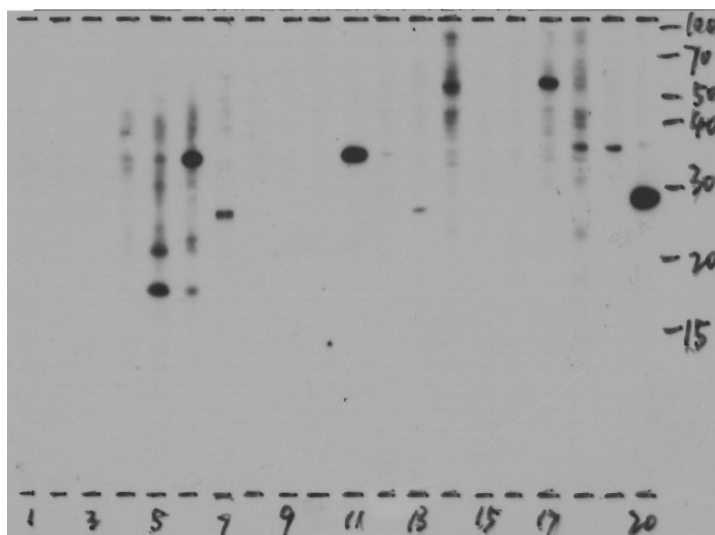


图 3. Western Blot 实验效果图