

量子点免疫印迹试剂盒

一、产品简介

本试剂盒利用链霉亲和素标记的量子点复合物与生物素标记的二抗（抗鼠或抗兔）的结合，实现对 Western Blot 实验中的蛋白印迹进行荧光标记和成像。具有以下优势：

（1）即时检测，无需避光：量子点复合物与 NC 膜或 PVDF 膜上的目标蛋白结合后可立即在凝胶成像系统中检测，无需繁琐的暗室曝光，操作方便。

（2）实时监控，节约成本：可用便携式紫外灯对量子点荧光信号进行实时观察，控制孵育时间；量子点孵育液可反复回收使用 3-5 次，成本降低。

（3）结合在目标蛋白上的量子点荧光强度稳定，4 周内荧光不会淬灭，可随时再次显色，显色后的印迹膜可在纯水中保存 4 周左右。

注：本产品仅供实验室科学研究。实验步骤是产品研发过程的经验步骤，客户可根据具体情况进行调整和优化。

二、适用范围和仪器要求

本试剂盒适用于从组织和细胞等生物样本中提取的蛋白进行 Western Blot 检测。

成像平台：凝胶成像系统。

三、试剂盒组成及保存

成分	体积
量子点标记的链霉亲和素（1 μM ） （QS525或QS605）	100 μL ×1支
生物素化的二抗（1.5mg/mL） （抗鼠或抗兔二选一）	100 μL ×1支

保存条件： 2~8°C 避光保存，切勿冻存。

五、实验步骤

- 1.蛋白电泳和转膜：蛋白电泳和转膜过程与常规Western Blot方法一致；
- 2.一抗孵育：一抗孵育过程与常规Western Blot方法一致：将已经转移在PVDF或者NC膜上的目的蛋白置于一抗稀释液中，37℃孵育1h，或者置于4℃，摇床孵育过夜；
- 3.洗涤：TBS-T洗涤三次，每次10min；
- 4.生物素化二抗孵育：洗涤完毕后，将膜放入已稀释的生物素化的二抗溶液中（建议稀释比为1:500），37℃孵育1小时；
- 5.洗涤：TBS-T洗涤三次，每次10min；
- 6.量子点孵育：洗涤完毕后，将膜放入量子点稀释液中（建议稀释比为1:500），37℃孵育1小时；
- 7.洗涤：TBS-T洗涤两次，每次10min，蒸馏水洗涤一次，10min；
- 8.成像条件：按下表选择合适的激发波长和发射波长，在凝胶成像系统中检测并成像。

量子点	Excitation	Emission
525nm量子点	<485nm	525nm
605nm量子点	<565nm	605nm

六、注意事项

1. 量子点孵育过程中可用手持式紫外灯照射印迹膜，若有明显条带出现，则可中止孵育，进行TBS-T洗涤。
2. 孵育完毕用TBS-T清洗二次后，需用蒸馏水清洗一次后方可上机检测。

七、应用实例

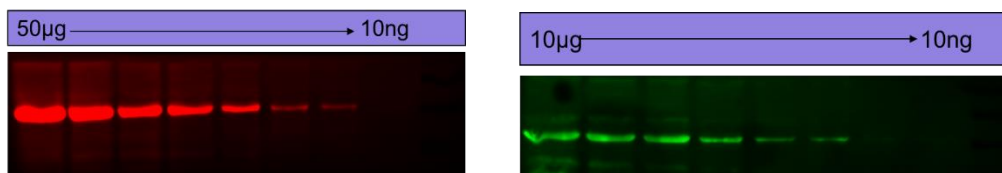


图1 HL7702 细胞的 GAPDH 内参蛋白在 NC 膜上应用量子点
(左 605nm 和右 525nm) 的荧光显色的条带。

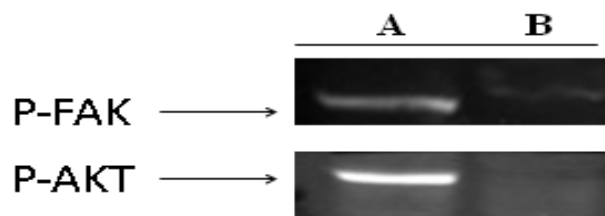


图2 乳腺癌细胞中磷酸化FAK蛋白和磷酸化AKT蛋白应用量子点
(605nm) 在凝胶成像系统上的检测条带

(A) 为用量子点检测到的乳腺癌细胞中的目的蛋白；
(B) 为该细胞中基因沉默后的表达情况，结果未检出相应蛋白的表达。

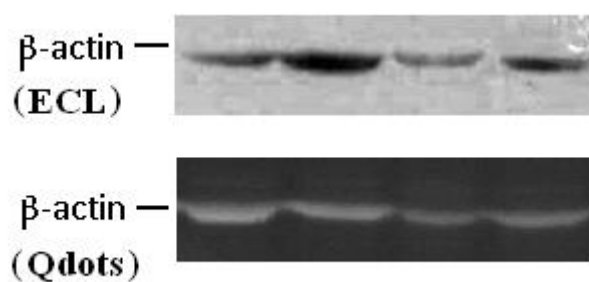


图3 乳腺癌细胞中内参蛋白 β -actin 的 ECL 成像和 Qdots 成像效果对比