

产品说明书

品名：Y-Tec 5min 快速封闭液(10×)

货号：YWB0100/YWB0500 规格：100mL/500ml

➤产品介绍：

Y-Tec 5min 快速封闭液（10×）是一款无蛋白成分快速 Western Blot 的封闭液，可用于高效快速的封闭转膜后的 NC 或 PVDF 膜，可替代脱脂奶粉、BSA 等传统封闭液。

整个封闭过程仅需 5 分钟，封闭效果可等同或者优于脱脂奶粉、BSA 等传统封闭液，帮助用户获得 WB 更好的信号目的条带与更低的背景结果。该试剂为无蛋白成分封闭液，可很好的避免内部成分与抗体发生交叉反应，适用性更加广泛，普遍适用于常规抗体与磷酸化的抗体的 WB 检测。

➤产品特点：

1. 超快免洗封闭——5min 完成封闭，无需洗涤，直接孵育一抗；
2. 无蛋白成分——很好的避免因封闭液成分中的蛋白与抗体非特异性结合导致的非特异性条带出现或者高背景；
3. 通用于常规抗体，磷酸化抗体，生物素标记抗体；
4. 抗原抗体结合增强配方——可有效增加抗原抗体结合能力，更好的目的条带信号，更低背景。

➤操作步骤：

1. 将 Y-Tec 快速封闭液（10×）：去离子水按照 1:9 稀释成 1×快速封闭液工作液；
2. 将转膜完成后的 NC 或者 PVDF 膜放入适宜体积的 1×Y-Tec 快速封闭液中（注意需完全覆盖膜，对于 6.5*8.5cm 的整膜，推荐使用量 15-20ml），置于水平摇床上，室温条件下振荡孵育 5 分钟。
3. **千万注意：**使用的一抗抗体母液**必须用 1×Y-Tec 快速封闭液稀释**成对应的抗体工作液（后续抗体工作液可直接在 4 度回收保存至少 2 个月），可更好的保证后续实验结果的低背景，二抗可正常按照常规实验方式稀释即可。

备注：本步骤也可用七纯生物 Y-Tec 稳定型抗体稀释（货号：YWA0500）来代替快速封闭液稀释一抗后孵育，曝光效果更佳，还可显著增加一抗工作液回收次数与保存时间，稀释后的抗体工作液 4 度长期保存时间可延长至 6-12 个月。

4. 取出封闭完成的膜，**注意无需 TBST 洗涤**，直接放入步骤 2 配置的一抗工作液正常孵育，完成后 TBST 重复洗涤 3 次，每次 10min。
5. 将步骤 3 中的孵育好一抗的膜加入步骤 2 配置的二抗工作液中孵育，孵育完成后 TBST 重复洗涤 3 次，每次 10min，后续正常曝光。

➤保存条件：

4°C 保存，保质期 12 个月。

► 注意事项

1. 该封闭液也可能存在一些不适用的实验体系，因此对于一些特殊的实验或抗体效果不能达到预期的，可以考虑用更适宜的封闭体系来进行实验；
2. 信号弱或者无信号：
 - (1) 目的蛋白样品上样量过少或者抗体浓度过低，可加大上样量或者增加一抗工作抗体浓度；
 - (2) 转膜效率过低导致膜上无目的蛋白或者目的蛋白过少，重新转膜后用丽春红染色检验转膜效果正常后再进行后续封闭与一抗二抗孵育；
 - (3) 抗体效价低，特异性差等原因造成，需要根据实验情况进行调整。
3. 背景高：
 - (1) 未用 **1×Y-Tec 快速封闭液** 稀释一抗；
解决方案：用 1×Y-Tec 快速封闭液稀释一抗或 Y-Tec 稳定型抗体稀释（货号：YWA0500）来稀释一抗即可。
 - (2) 抗体使用量过多或者蛋白上样量过大会导致大量的非特异性条带出现；
解决方案：降低蛋白上样量或者抗体浓度即可避免。
 - (3) 转印膜的洗涤时间次数过少或者时间过短；
解决方案：补充 TBST 洗涤次数与洗涤膜的时间。
 - (4) 试剂或仪器设备被污染等原因造成；
解决方案：需要根据实验具体情况进行调整。

友情提醒：实验时请穿戴实验服并佩戴一次性手套操作。

For Laboratory Research Use Only