

<二次抗体反応>

- 1) チップケースやタッパーなどに二次抗体(20mL)を調製し、washの終了したメンブレンを入れる。

※二次抗体 5 μ L/ 1XTBST 20mL

- 2) Labnet の shaker で1時間 (speed 100 くらい)

<二次抗体反応>

1) チューブに二次抗体 (5ml) を作製し、wash の終了したメンブレンを入れる。

※メンブレンはラベルした面を内側にしてらせん状に入れる。

(二次抗体をメンブレンにいきわたらせる様にするため。)

※チューブとメンブレンの間に気泡が入らないようにする。入っていたら押し出す。

(回転しているとはがれることがあるため。)

※メンブレンが小さくてチューブからはがれてしまう場合は小さいタッパーもしくはチップケースのふた等を使用しても良い。

この場合、二次抗体は 20ml 必要となる。

2) ローターで incubation 、1h

タッパーやチップケースを使用した際は shaker で。

② 1×TBST	5ml	20ml
②抗体	1 μl	4 μl

1/5000 にする

①→②の順に入れる。

<二次抗反応体後の wash>

- 1) タッパ-に 1×TBST を入れる。
- 2) チューブからメンブレンを指で取り、タッパ-へ入れる。
- 3) メンブレンをすすぐ。
- 4) 1×TBST を入れ替えて wash
(shake 15min×3~4回 1h)