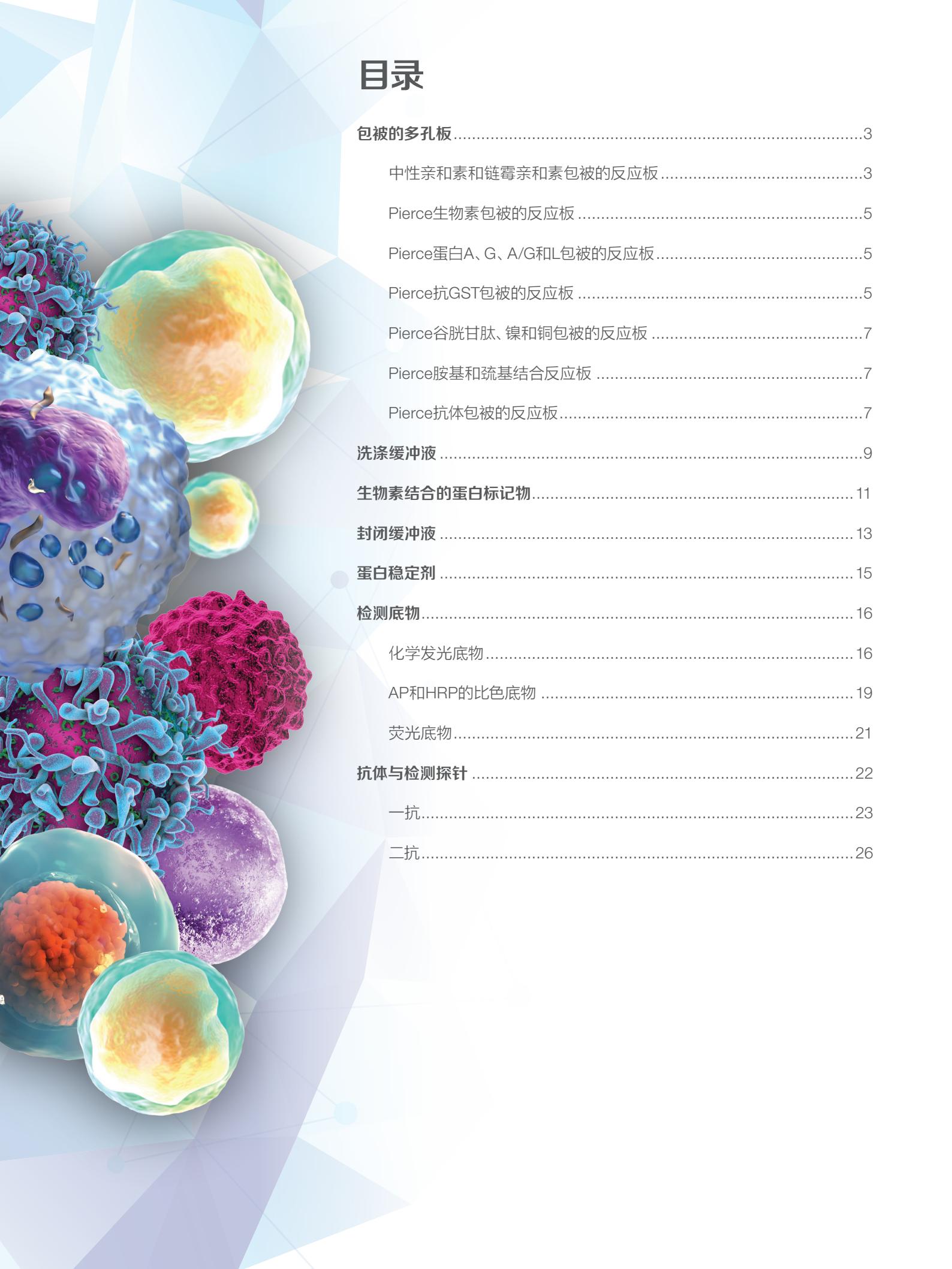


# ELISA DIY产品选择指南



# 目录



<b>包被的多孔板</b>	3
中性亲和素和链霉亲和素包被的反应板	3
Pierce生物素包被的反应板	5
Pierce蛋白A、G、A/G和L包被的反应板	5
Pierce抗GST包被的反应板	5
Pierce谷胱甘肽、镍和铜包被的反应板	7
Pierce胺基和巯基结合反应板	7
Pierce抗体包被的反应板	7
<b>洗涤缓冲液</b>	9
<b>生物素结合的蛋白标记物</b>	11
<b>封闭缓冲液</b>	13
<b>蛋白稳定剂</b>	15
<b>检测底物</b>	16
化学发光底物	16
AP和HRP的比色底物	19
荧光底物	21
<b>抗体与检测探针</b>	22
一抗	23
二抗	26

# 包被的多孔板

我们提供了各种高性能的表面包被的反应板(预先包被和预先封闭的聚苯乙烯96孔和384孔微孔板),有透明、白色和黑色可供选择,可用于标准或荧光酶标仪。根据检测试剂选择反应板颜色。透明的聚苯乙烯平底反应板可用于比色分析,而黑色或白色不透明的反应板则可用于荧光和化学发光应用。每个批次均已经过功能测试,有助于确保反应孔和反应板之间的差异最低。此外还可提供定制包被的多孔板。

表1. Thermo Scientific™ Pierce™品牌包被的聚苯乙烯微孔板。

微孔板包被	应用
蛋白A、G或A/G	通过Fc区段结合抗体
蛋白L	通过κ轻链结合Fab抗体片段和单链可变区片段(scFv)
二抗	用于结合抗体,可作为蛋白A、G或L的替代物
中性亲和素或链霉亲和素	用于结合生物素化蛋白、肽或核酸;还可提供黑色或白色不透明的微孔板
生物素	用于结合亲和素、链霉亲和素或中性亲和素生物素结合蛋白
Ni <sup>2+</sup> 或谷胱甘肽	用于结合包含多聚组氨酸或谷胱甘肽-S-转移酶(GST)的重组表达蛋白
马来酸酐	用于结合含有氨基的大分子或小分子
马来酰亚胺活化	用于结合含有巯基的分子
抗GST	用于捕获表达谷胱甘肽-S-转移酶的蛋白质



## 中性亲和素和链霉亲和素包被的反应板

Thermo Scientific™ Pierce™链霉亲和素和中性亲和素包被的反应板是预先封闭的即用型包被反应板,可用于结合生物素化抗体或核酸探针。反应板有标准结合能力、高结合能力和高灵敏度形式可供选择。

表2. Pierce中性亲和素和链霉亲和素包被的反应板比较。使用各种产品类型的黑色反应板和Thermo Scientific™ QuantaBlu™荧光过氧化物酶底物试剂盒确定检测范围。

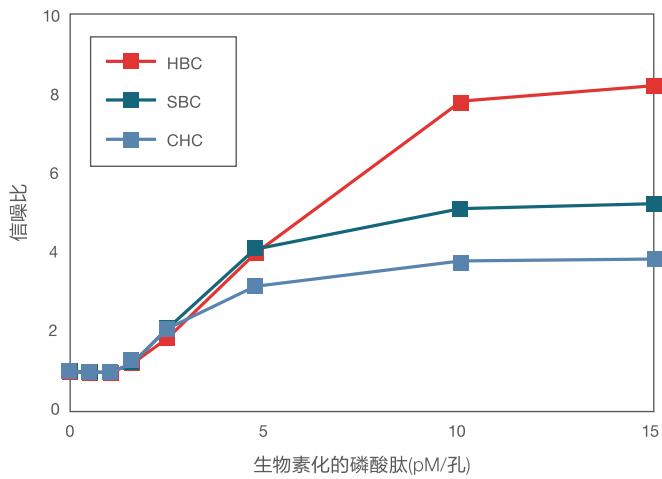
高灵敏度(HS)	高结合能力(HBC)	标准结合能力(SBC)
应用	检测低浓度的生物素化分子	检测高浓度的生物素化分子 通用ELISA筛选应用
生物素化蛋白的最小尺寸	>26 kDa	>8 kDa >8 kDa
检测范围, 中性亲和素反应板	5-125 ng/mL	15-2,500 ng/mL 15-300 ng/mL
检测范围, 链霉亲和素反应板	5-300 ng/mL	62-10,000 ng/mL 31-1,250 ng/mL

**表3.链霉亲和素包被的反应板列表**

货号	产品名称	规格
15118	Pierce™ 链霉亲和素包被板, 白色, 96 孔	5 plates
15119	Pierce™ 链霉亲和素包被板, 黑色, 96 孔	5 plates
15120	Pierce™ 链霉亲和素包被板, 透明, 8 孔联排	5 plates
15121	Pierce™ 链霉亲和素包被板, 透明, 8 孔联排	5 plates
15122	Pierce™ 链霉亲和素包被板, 透明, 8 孔联排	5 x 5 plates
15124	Pierce™ 链霉亲和素包被板, 透明, 96 孔	5 plates
15125	Pierce™ 链霉亲和素包被板, 透明, 96 孔	5 plates
15126	Pierce™ 链霉亲和素包被板, 透明, 96 孔	5 x 5 plates
15218	Pierce™ 链霉亲和素包被板, 白色, 96 孔	5 plates
15219	Pierce™ 链霉亲和素包被板, 黑色, 96 孔	5 plates
15405	Pierce™ 链霉亲和素包被板, 透明, 384 孔	5 plates
15407	Pierce™ 链霉亲和素包被板, 黑色, 384 孔	5 plates
15500	Pierce™ 链霉亲和素包被高容量板, 透明, 96 孔	5 plates
15501	Pierce™ 链霉亲和素包被高容量板, 透明, 8 孔联排	5 plates
15502	Pierce™ 链霉亲和素包被高容量板, 白色, 96 孔	5 plates
15503	Pierce™ 链霉亲和素包被高容量板, 黑色, 96 孔	5 plates
15504	Pierce™ 链霉亲和素包被高容量板, 透明, 384 孔	5 plates
15505	Pierce™ 链霉亲和素包被高容量板, 白色, 384 孔	5 plates
15506	Pierce™ 链霉亲和素包被高容量板, 黑色, 384 孔	5 plates
15525	Pierce™ 链霉亲和素包被高灵敏度板, 黑色, 8 孔联排	5 plates

**表4.中性亲和素包被的反应板列表**

货号	产品名称	规格
15116	Pierce™ 中性亲和素包被板, 白色, 96 孔	5 plates
15117	Pierce™ 中性亲和素包被板, 黑色, 96 孔	5 plates
15123	Pierce™ 中性亲和素包被板, 透明, 96 孔	5 plates
15127	Pierce™ 中性亲和素包被板(透明, 8 孔联排)	5 plates
15128	Pierce™ 中性亲和素包被板, 透明, 8 孔联排	5 plates
15129	Pierce™ 中性亲和素包被板, 透明, 96 孔	5 plates
15216	Pierce™ 中性亲和素包被板, 白色, 96 孔	5 plates
15217	Pierce™ 中性亲和素包被板, 黑色, 96 孔	5 plates
15400	Pierce™ 中性亲和素包被板(透明, 384孔)	5 plates
15401	Pierce™ 中性亲和素包被板, 白色, 384 孔	5 plates
15402	Pierce™ 中性亲和素包被板, 黑色, 384 孔	5 plates
15507	Pierce™ 中性亲和素包被高容量板, 透明, 96 孔	5 plates
15508	Pierce™ 中性亲和素包被高容量板, 透明, 8 孔联排	5 plates
15509	Pierce™ 中性亲和素包被高容量板(白色, 96孔)	5 plates
15510	Pierce™ 中性亲和素包被高容量板, 黑色, 96 孔	5 plates
15511	Pierce™ 中性亲和素包被高容量板, 透明, 384 孔	5 plates
15513	Pierce™ 中性亲和素包被高容量板, 黑色, 384 孔	5 plates



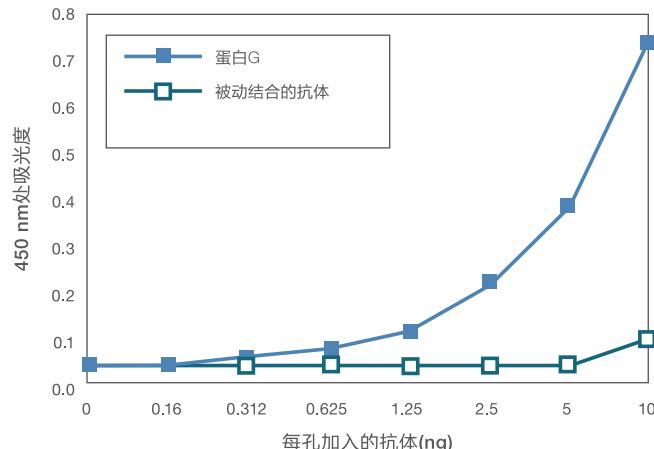
**图1.** 中性亲和素高结合能力(HBC)的包被反应板、中性亲和素标准结合能力(SBC)的包被反应板和其他供应商的链霉亲和素包被的高结合能力反应板(CHC)的比较。反应板使用不同稀释度的生物素化的磷酸肽孵育。洗涤后, 使用小鼠抗磷酸酪氨酸抗体(1:1,000)孵育, 然后使用抗小鼠FITC结合物(1:667)检测。S/N = 信噪比。

## Pierce生物素包被的反应板

Thermo Scientific™ Pierce™ 生物素包被的反应板可用于中性亲和素、链霉亲和素、亲和素及其他生物素结合蛋白的免疫分析。反应板已预先封闭, 有助于减少非特异性结合。

## Pierce蛋白A、G、A/G和L包被的反应板

Thermo Scientific™ Pierce™蛋白A、G、A/G和L包被的反应板可替代用于ELISA固相化抗体的直接被动吸附方法及其他基于反应板的分析技术。这些反应板均匀且稳定地包被有四种常用的免疫球蛋白结合蛋白之一(蛋白A、蛋白G、蛋白A/G或蛋白L)。它们可与抗体的Fc区段结合, 以获得最佳方向, 实现最大程度的抗原捕获(图2)。其稳定的包被有助于确保最大程度地减小差异。



**图2.** 方向适当的抗体具有更高的活性。

## Pierce抗GST包被的反应板

Thermo Scientific™ Pierce™抗GST抗体包被的反应板是包被有小鼠单克隆抗GST抗体的聚苯乙烯微孔板, 且预先经过封闭, 可立即使用。与谷胱甘肽包被的反应板不同, 这些抗GST反应板可以高效结合天然和变性形式的GST。大多数情况下, 在使用反应板通过ELISA筛选并分析重组GST标签蛋白的表达前, 无需对细胞裂解物进行预先纯化。

表5.生物素包被的反应板列表

货号	产品名称	规格
15151	Pierce™ 生物素包被板, 透明, 8 孔联排	5 plates

表6.蛋白 A、G、A/G和 L 包被的反应板列表

货号	产品名称	规格
15155	Pierce™ 蛋白 A 包被板, 黑色, 96 孔	5 plates
15132	Pierce™ 蛋白 A 包被板, 透明, 8 孔联排	5 plates
15130	Pierce™ 蛋白 A 包被板(透明, 96孔)	5 plates
15154	Pierce™ 蛋白 A 包被板, 白色, 96 孔	5 plates
15138	Pierce™ 蛋白 A/G 包被板, 透明, 8 孔联排	5 plates
15157	Pierce™ 蛋白 G 包被板(黑色, 96孔)	5 plates
15133	Pierce™ 蛋白 G 包被板, 透明, 8 孔联排	5 plates
15131	Pierce™ 蛋白 G 包被板, 透明, 96孔	5 plates
15156	Pierce™ 蛋白 G 包被板, 白色, 96 孔	5 plates
15190	Pierce™ 蛋白 L 包被板, 透明, 96 孔	5 plates

表7.抗GST包被的反应板列表

货号	产品名称	规格
15144	Pierce™ 抗 GST 包被板, 透明, 8 孔联排	5 plates

# Pierce谷胱甘肽、镍和铜包被的反应板

Thermo Scientific™ Pierce™ 谷胱甘肽、镍和铜包被的反应板可用于捕获并检测融合蛋白；谷胱甘肽包被的反应板可捕获并检测谷胱甘肽-S-转移酶(GST)融合蛋白，而镍和铜则结合His标签融合蛋白(图3和4)。

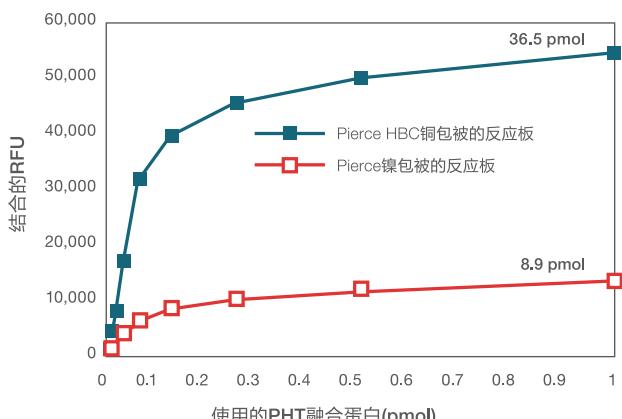


图3. 组氨酸标签荧光融合蛋白与标准Pierce镍包被和铜包被的高结合能力(HBC)反应板的结合比较。使用100 μL的分析体积时，Pierce铜包被的HBC反应板与纯化的多聚组氨酸标签蛋白的结合能力高4倍。孵育时间为2小时。

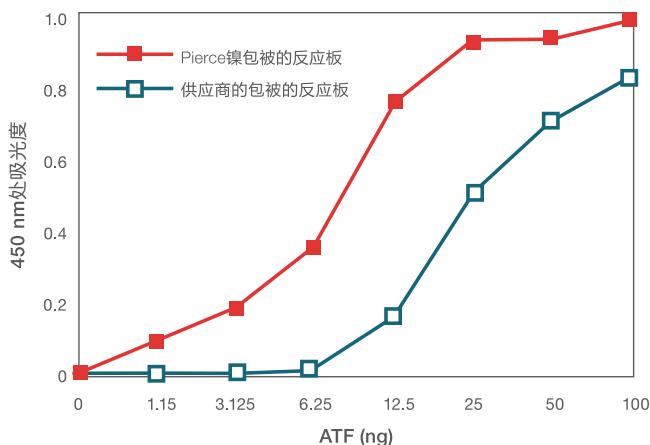


图4. 组氨酸标签ATF融合蛋白与Pierce镍包被的反应板及其他供应商的反应板的结合比较。

# Pierce胺基和巯基结合反应板

Thermo Scientific™ Pierce™ 马来酸酐活化的反应板可使蛋白质和其他含有伯胺的化合物共价连接至微孔板的孔上。这些反应板适用于不易与普通聚苯乙烯反应板结合的化合物的固相化。

Thermo Scientific™ Pierce™ 马来酸酐活化的反应板可以结合难以包被至聚苯乙烯反应板的含有巯基的分子，如含有末端半胱氨酸的肽。我们的包被反应板尤其适合在抗体生产过程中，评估特异性抗半抗原抗体的滴度。

# Pierce抗体包被的反应板

Thermo Scientific™ Pierce™ 抗体包被的反应板适用于少量、变性的或直接吸附至聚苯乙烯反应板后失活的抗体的结合分析。由于这些反应板是IgG特异性的，因此无需纯化抗体。这些反应板可用于直接、间接、竞争或三明治分析。

- 抗小鼠反应板：结合能力：约7 pmol IgG/孔
- 抗兔反应板：结合能力：约12 pmol IgG/孔

**表8.谷胱甘肽包被的反应板列表**

货号	产品名称	规格
15140	Pierce™ 谷胱甘肽包被板, 透明, 8 孔联排	5 plates
15240	Pierce™ 谷胱甘肽包被板, 白色, 96 孔	5 plates
15340	Pierce™ 谷胱甘肽包被板, 黑色, 96 孔	5 plates
436033	带亲和结合表面的板和模块, 400µL, 固体板, 白色谷胱甘肽	Case of 15

**表9.镍包被的反应板列表**

货号	产品名称	规格
15142	Pierce™ 镍包被板, 透明, 8 孔联排	5 plates
15242	Pierce™ 镍包被板, 白色, 96 孔	5 plates
15342	Pierce™ 镍包被板, 黑色, 96 孔	5 plates
15442	Pierce™ 镍包被板 (透明, 96 孔)	5 plates

**表10.铜包被的反应板列表**

货号	产品名称	规格
15143	Pierce™ 铜包被高容量板, 透明, 96 孔	5 plates
15146	Pierce™ 铜包被高容量板, 透明, 8 孔联排	5 plates
15147	Pierce™ 铜包被高容量板 (白色, 96孔)	5 plates
15148	Pierce™ 铜包被高容量板 (黑色, 96孔)	5 plates

**表11.马来酸酐和马来酰亚胺包被的反应板列表**

货号	产品名称	规格
15100	Pierce™ 马来酸酐活化板, 透明, 8 孔联排	5 plates
15102	Pierce™ 马来酸酐活化板, 透明, 8 孔联排	25 plates
15110	Pierce™ 马来酸酐活化板, 透明, 96 孔	5 plates
15112	Pierce™ 马来酸酐活化板, 透明, 96 孔	25 plates
15150	PierceTM 马来酰亚胺活化板, 透明, 8孔联排	5 plates
15152	PierceTM 马来酰亚胺活化板, 白色, 96孔	5 plates
15153	PierceTM 马来酰亚胺活化板, 白色, 96孔	5 plates

**表12.抗体包被的反应板列表**

货号	产品名称	规格
15134	Pierce™ 山羊抗小鼠 IgG 抗体包被板, 透明, 96 孔	5 plates

# 洗涤缓冲液

## BuPH干式混合缓冲液包和Pierce浓缩缓冲液

Thermo Scientific™ BuPH™包是预混合和预测试的常用缓冲液的干式混合物，十分容易配制；只需将铝箔包装中的内容物倒入烧杯中，加入超纯水并搅拌溶解即可。这种包装免除了称量时间和繁琐的pH调整。BuPH干式混合缓冲液包和Pierce浓缩缓冲液适用于各种实验技术(表13)。

### 特点：

- 便捷** — 将包装中的内容物溶解于水中，缓冲液可立即使用
- 有助于节省时间并避免麻烦** — 无需称量，无需调整pH，无需保存单独的组分，无需制备并保存大量的储液供日常使用
- 长保质期** — 干式包装保存可最大程度地避免储液的长期稳定性的问题
- 消除差异** — 我们的质量控制有助于确保每包包装都可以获得一致的缓冲液

Thermo Scientific™ Pierce™浓缩缓冲液可直接使用，无需使用超纯水配制。缓冲液适用于透析、交联、酶分析、ELISA、免疫组织化学、蛋白质反应板包被、生物素化及其他应用领域。

### 特点：

- 易于使用** — 无需打开包装，无需溶解粉末
- 有助于提高准确性** — 最大程度地减少了包装中的粉末残留
- 有助于节省时间** — 20X浓缩最大程度地缩短了等待粉末溶解的时间
- 有助于节省空间** — 以浓缩储液的形式储存可最大程度地减少溶液所需的实验台空间

表13. BuPH干式混合缓冲液包和Pierce浓缩缓冲液。

BuPH包		
说明	应用	重新溶解后的配方
磷酸盐缓冲液(PBS)	需要无胺基缓冲液的交联和生物素化应用	500 mL的0.1 M磷酸钠, 0.15 M NaCl, pH 7.2
Modified Dulbecco's PBS	适用于ELISA、蛋白质免疫印迹和其他免疫分析的洗涤缓冲液和抗体稀释液	500 mL的8 mM磷酸钠, 2 mM磷酸钾, 0.14 M NaCl, 10 mM氯化钾, pH 7.4
Tris盐缓冲液	适用于ELISA、蛋白质免疫印迹和其他免疫分析的洗涤缓冲液和抗体稀释液	500 mL的25 mM Tris, 0.15 M NaCl, pH 7.2

BuPH包		
说明	应用	重新溶解后的配方
Pierce 20X Modified Dulbecco's PBS缓冲液	适用于ELISA、蛋白质免疫印迹和其他免疫分析等应用的洗涤缓冲液和抗体稀释液	8 mM磷酸钠, 2 mM磷酸钾, 0.14 M NaCl, 100 mM KCl, pH 7.4
Pierce 20X Modified Dulbecco's PBS Tween-20缓冲液	适用于ELISA、蛋白质免疫印迹和其他免疫分析的洗涤缓冲液，以及适用于基于反应板的分析的封闭缓冲液	8 mM磷酸钠, 2 mM磷酸钾, 0.14 M NaCl, 100 mM KCl, 0.05% Tween-20, pH 7.4
Pierce 20X磷酸盐缓冲液	其离子强度使其适用于需要无胺基缓冲液的交联和生物素化应用	0.01 M磷酸钠, 0.15 M NaCl, pH 7.5
Pierce 20X PBS Tween-20缓冲液	适用于ELISA、蛋白质免疫印迹和其他免疫分析的洗涤缓冲液，以及适用于基于反应板的分析的封闭缓冲液	0.01 M磷酸钠, 0.15 M NaCl, 0.05% Tween-20, pH 7.5
Pierce 20X TBS缓冲液	适用于ELISA、蛋白质免疫印迹和其他免疫分析等应用的洗涤缓冲液和抗体稀释液	25 mM Tris, 0.15 M NaCl, pH 7.2
Pierce 20X TBS Tween-20缓冲液	适用于ELISA、蛋白质免疫印迹和其他免疫分析的洗涤缓冲液，以及适用于基于反应板的分析的封闭缓冲液	25 mM Tris, 0.15 M NaCl, 0.05% Tween-20, pH 7.5

表14.推荐的 ELISA 板包被缓冲液、洗涤缓冲液和稀释剂

缓冲液	组成	何时使用	可用规格(货号)
ELISA 板包被缓冲液	10mM 磷酸缓冲液, pH 7.4	推荐大多数蛋白质使用	浓缩物 (CB07100)
	50mM 碳酸缓冲液, pH 9.4	高 pH 值有助于部分蛋白质和肽的溶解, 并确保大多数蛋白质未质子化并带有整体负电荷, 这有助于与带正电荷的板结合。	浓缩物 (CB01100) 粉末 (28382)
ELISA 洗涤缓冲液	含 0.05% Tween 20 的 Tris 缓冲盐水		浓缩物 (28360) 粉末 (28379)
	含 0.05% Tween 20 的磷酸盐缓冲盐水		浓缩物 (28352) 粉末 (00-0400-46)
ELISA 稀释剂	含 BSA 的磷酸盐缓冲溶液	ELISA 稀释剂旨在用作 (1) ELISA 板封闭剂, (2) ELISA 标准品和样品稀释剂, (3) 检测抗体稀释剂, 和 (4) HRP 结合物稀释剂	浓缩物 (00-4202-56 )

# 生物素结合的蛋白标记物

## 酶标记的链霉亲和素及亲和素结合物

### Pierce高灵敏度链霉亲和素-HRP

Thermo Scientific™ Pierce™ 高灵敏度链霉亲和素-HRP复合物是一种独有的过氧化物酶标记的、生物素结合的蛋白质，可提供信号放大和极佳的保存稳定性。

#### 特点：

- 高灵敏度** – 检测低水平的靶点，无背景；具有高信噪比(图5)
- 经济高效** – 在蛋白质免疫印迹和ELISA应用中，使用较少的复合物仍可获得极佳的结果
- 灵活** – 可与常用的化学发光、荧光和比色法过氧化物酶底物兼容
- 便捷** – 即用型的稳定化液体形式意味着无需解冻和分装

这种特殊生产的HRP结合的链霉亲和素蛋白可以满足当今科学家的要求，在免疫分析应用中提高检测灵敏度。结合物适用于化学发光、荧光或比色底物。每种高灵敏度的HRP结合物均采用即用型的稳定化溶液包装，可以在4°C下保存至少1年，使用方便。

### Pierce链霉亲和素Poly-HRP结合物

Thermo Scientific™ Pierce™ 链霉亲和素Poly-HRP结合物是与HRP聚合物偶联的生物素结合蛋白，可实现信号放大和生物素化抗体的检测，适用于IHC及其他方法。Pierce链霉亲和素Poly-HRP结合物可提供最高的灵敏度和低背景，适用于样本体积有限或靶分子水平较低的免疫分析应用。链霉亲和素Poly-HRP结合物已经纯化，去除了未结合的链霉亲和素分子，通过竞争HRP-偶联分子的结合位点降低信号强度。此外，结合物中不含可产生背景信号的HRP单体。

#### 特点：

- 高灵敏度** – 可检测低丰度靶点(低至皮克至飞克范围)，具有高信噪比
- 稳定** – 一致的生产和纯化过程，最大程度地减少了低水平结合和未结合的分子，提供最低的背景和高灵敏度
- 灵活** – 可与显色、荧光和化学发光底物兼容
- 功能多样** – 适用于ELISA、蛋白质免疫印迹和IHC
- 易于使用** – 可直接替代免疫分析及其他检测分析
- 便捷** – 即用型的稳定化液体形式，可置于4°C保存
- 经济高效** – 与标准HRP结合物相比，单位分析的结合物用量更少

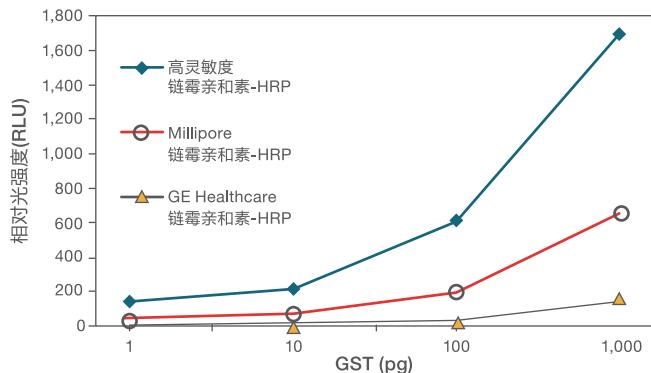


图5. Pierce高灵敏度链霉亲和素-HRP结合物可实现低水平靶点的检测，具有高信噪比。使用Thermo Scientific™ StartingBlock™ (PBS) 封闭缓冲液序列稀释(0–10,000 pg/mL)重组Thermo Scientific™ Pierce™ GST (谷胱甘肽-S-转移酶)。将各稀释液(100 μL)加入96孔Thermo Scientific™ Pierce™ 谷胱甘肽包被的反应板中，重复检测四次，包括阴性对照。室温孵育反应板60分钟，使用PBS Tween™-20去污剂冲洗三次。每孔中加入生物素化的抗GST (100 μL, 250 ng/mL; Santa Cruz)。室温孵育反应板30–60分钟，冲洗三次。参照制造商的操作指南，在封闭缓冲液中稀释链霉亲和素-HRP结合物。Pierce高灵敏度链霉亲和素-HRP结合物以1:10,000稀释，其他供应商的结合物以1:1,000稀释。将结合物溶液(100 μL)加入反应板中，室温孵育60分钟(避光)。冲洗反应板五次，加入150 μL/孔的Thermo Scientific™ SuperSignal™ ELISA Pico底物。使用光度计检测信号强度。

### Pierce链霉亲和素，HRP结合物

Thermo Scientific™ Pierce™ HRP-偶联的链霉亲和素包括纯化形式的链霉亲和素，与过氧化物酶偶联，用于底物检测。

Pierce 链霉亲和素，HRP结合物可实现生物素化抗体及其他探针的检测，适用于多种标准分析方法，包括蛋白质免疫印迹、ELISA、IHC和荧光成像。结合物以冻干粉末(在磷酸盐缓冲液中的形式提供，可用水立即配制。

### 链霉亲和素，碱性磷酸酶结合物

Invitrogen™ 链霉亲和素碱性磷酸酶结合物可与显色或荧光底物结合使用，用于信号放大系统中的生物素检测。

## Pierce高灵敏度中性亲和素 HRP结合物

Thermo Scientific™ Pierce™ 高灵敏度中性亲和素 HRP结合物是一种特殊配制的过氧化物酶偶联的亲和素-生物素结合蛋白, 可提供与poly-HRP结合物类似的信号放大和极佳的保存稳定性。这种特殊生产的HRP结合的亲和素蛋白可以满足多种需求, 在ELISA等免疫检测应用中提高检测灵敏度。结合物适用于化学发光、荧光或比色底物。高灵敏度的HRP结合物采用即用型的稳定化溶液包装, 可以在4°C下保存至少1年, 使用方便。

### 特点:

- 中性亲和素蛋白** – 一种特殊的去糖基化形式的亲和素, 可提供高特异性、低背景的生物素化抗体的结合, 适用于多种应用领域
- 高灵敏度** – 可检测低水平的靶点, 无背景; 具有高信噪比(图5)
- 经济高效** – 在蛋白质免疫印迹和ELISA应用中, 使用较少的结合物仍可获得极佳的结果
- 灵活** – 可与常用的化学发光、荧光和比色法过氧化物酶底物兼容
- 便捷** – 即用型的稳定化液体形式意味着无需解冻和分装

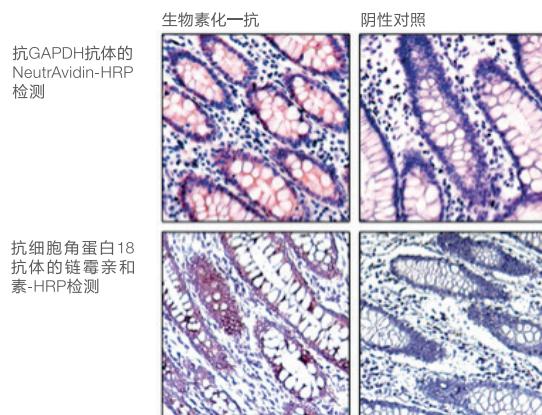


图6.在人结肠癌组织中使用Pierce高灵敏度HRP结合物, 实现极佳的GAPDH和细胞角蛋白18的IHC染色。使用金属增强型DAB底物(Thermo Scientific™ Pierce™ 免疫组织化学过氧化物酶检测试剂盒)对福尔马林固定石蜡包埋的(FFPE)人结肠癌组织进行染色。使用生物素化的抗GAPDH或免抗细胞角蛋白18抗体孵育组织, 然后使用生物素化的抗兔IgG (左图)或仅封闭缓冲液(右图)进行孵育。随后使用Pierce高灵敏度中性亲和素-HRP (上图)或链霉亲和素-HRP结合物(下图)孵育切片。使用Harris改良的苏木精溶液对组织进行复染(所有图中的蓝色染色)。使用Pierce 中性亲和素 HRP和链霉亲和素-HRP结合物染色, GAPDH和细胞角蛋白18呈褐色(左图), 阴性对照图显示组织中无褐色。

## Pierce 中性亲和素 HRP结合物

Thermo Scientific™ Pierce™ 中性亲和素 HRP结合物是一种特殊形式的过氧化物酶偶联的亲和素-结合素结合蛋白, 可降低蛋白质免疫印迹和ELISA应用中的背景。

中性亲和素蛋白是来源于蛋清的去糖基化的天然亲和素。利用独有的过程去除多余的碳水化合物, 生成更接近中性等电点且非特异性结合程度更低的蛋白质。中性亲和素蛋白具有高分析特异性和灵敏度及高信噪比。纯化和偶联形式的中性亲和素蛋白可提供极佳的性能, 适用于需要生物素结合探针的蛋白质免疫印迹、ELISA和IHC应用。

表15. ELISA 应用推荐的 HRP 结合物和 AP 结合物

结合物	酶	建议浓度*	优势	可用规格(货号)
HRP-链霉亲和素	HRP	0.1 µg/mL	最受欢迎	2 mg (21124) 1 mg (21126) 5 mg (21127)
HRP-链霉亲和素,高灵敏度	HRP		与传统 HRP 偶联物相比, 高灵敏度链霉亲和素-HRP 可多稀释 8 至 10 倍	0.5 mL (21130) 5 mL (21132)
HRP-链霉亲和素,高灵敏度预稀释	HRP		无需稀释	2 mL (21134)
Poly-HRP 链霉亲和素	HPR	1:2,000 - 1:20,000	在典型 HRP 结合物显示微弱信号时使用。Poly 增加信号放大并改善典型(非 Poly)链霉亲和素-HRP 结合物提供的信号	0.25 mL (N200)
HRP-中性亲和素	HRP	0.1 µg/mL	抗生物素蛋白的特殊制备形式, 可降低生物素结合的背景	2 mg (31001)
HRP-中性亲和素, 高灵敏度	HRP	1:8,000 - 1:40,000	无背景低水平靶点检测; 像聚 HRP 结合物一样提供信号放大	0.5 mL (31030)
AP-链霉亲和素	AP	0.1 µg/mL		1 mg (21324)
AP-中性亲和素	AP		抗生物素蛋白的特殊制备形式, 可降低生物素结合的背景	2 mg (31002)

\*各种具体应用的最佳稀释度必须根据经验确定。稀释液须现用现配。

# 封闭缓冲液

Thermo Scientific™ Pierce™ 封闭缓冲液适用于蛋白质检测系统，如ELISA、蛋白质免疫印迹、侧流设备和蛋白质芯片，旨在降低非特异性结合。我们提供了各种封闭缓冲液配方，含有不同的封闭和缓冲试剂(表16)。

表16. 封闭液的应用推荐

产品	ELISA	WB	IHC	核酸检测
SuperBlock封闭缓冲液	✓	✓	✓*	
StartingBlock封闭缓冲液	✓	✓	✓	
Blocker酪蛋白封闭缓冲液	✓	✓	✓	✓
Blocker BSA封闭缓冲液	✓	✓	✓	✓
Blocker BLOTO封闭缓冲液	✓	✓	✓	
SEA BLOCK封闭缓冲液	✓	✓		
Pierce无蛋白封闭缓冲液	✓	✓		
I-Block™ 蛋白质封闭试剂	✓	✓		

\* 适用于采用抗体或亲和素/生物素探针的IHC (封闭剂不含血清和生物素)。

## SuperBlock封闭缓冲液

Thermo Scientific™ StartingBlock™ 封闭缓冲液的特点包括:

- 无蛋白封闭缓冲液** — 最大程度地降低或去除了蛋白质封闭缓冲液的交叉反应性
- 应用兼容性** — 在各种蛋白检测系统中均十分高效, 包括蛋白质免疫印迹(膜)、ELISA (微孔板)和芯片(包被的玻片)
- 适用于链霉亲和素** — 绝对不含生物素; 不会与亲和素-生物素检测系统产生干扰
- 高性能** — 已经过多种蛋白质方法的优化和验证, 提供了高信噪比(即无特异性结合和信号淬灭, 但去除了非特异性结合和背景)
- 灵活** — 提供了PBS和TBS配方, 适合多种应用领域

## StartingBlock缓冲液

Thermo Scientific™ StartingBlock™ 缓冲液的特点包括:

- 可与多种检测系统兼容** — 蛋白质免疫印迹、ELISA和采用抗体或亲和素/生物素探针的IHC (封闭剂不含血清和生物素)
- 较短的封闭时间** — 硝酸纤维素或PVDF膜少于15分钟; 聚苯乙烯微孔板的速度更快
- 无需重新封闭即可剥离并重新检测** — 使用Thermo Scientific™ Restore™ 剥离缓冲液剥离后, 印迹仍保持封闭
- 高信噪比** — 不含生物素和血清蛋白质的配方有助于将信噪比从10:1提高至20:1
- 便捷的形式** — 即用型1X配方(在PBS和TBS中稀释, 含有和不含Tween-20去污剂)

## Blocker酪蛋白

Thermo Scientific™ Blocker™ 酪蛋白的特点包括:

- 纯化的酪蛋白** — 相比血清或牛奶溶液, 单一蛋白质封闭缓冲液降低了与分析组分的交叉反应几率
- 易于使用** — 1%的酪蛋白溶液可立即使用; 可根据需要进一步稀释
- 灵活** — 提供了PBS和TBS配方, 适合多种应用领域
- 安全** — 稳定、不含硫柳汞的配方

## Blocker BSA

Thermo Scientific™ Blocker™ BSA的特点包括:

- 纯化的蛋白质** — 10%的高质量牛血清白蛋白溶液; 相比血清或牛奶溶液, 单一纯化的蛋白质降低了与分析组分的交叉反应几率
- 便捷** — 浓缩配方有助于节省储存空间, 并可轻松稀释, 以获得最佳的封闭结果, 用于特定的应用
- 易于使用** — 使用这种可立即稀释的浓缩液无需等待粉末溶解

## SEA BLOCK封闭缓冲液

Thermo Scientific™ SEA BLOCK封闭缓冲液的特点包括:

- 非哺乳动物** — 利用鲑鱼血清生成。由于缓冲液中的蛋白质来源于哺乳动物, 因此最大程度地降低了非特异性相互作用引起的背景
- 便捷** — 在PBS中过滤并稳定, 可与大多数分析系统兼容
- 易于使用** — 可以直接使用或根据需要稀释至多10倍
- 灵活** — 适用于多种不同的应用, 包括用作抗体稀释液

## Pierce Clear Milk封闭缓冲液(10X)

Thermo Scientific™ Pierce™ Clear Milk封闭缓冲液的特点包括:

- 极佳的稳定性** — 与传统的自制牛奶缓冲液不同, 其可在4°C下稳定保存一年
- 便捷** — 浓缩配方可节省储存空间, 并可轻松稀释, 以获得最佳的封闭结果, 用于特定的应用
- 易于使用** — 使用这种可立即稀释的溶液无需等待牛奶粉末溶解
- 常用** — 多年来, 脱脂牛奶一直被应用于各种蛋白质方法, 但由于其包含一些内源性的生物素, 因此不推荐用基于亲和素的技术

## Blocker BLOTO封闭缓冲液

Thermo Scientific™ Blocker™ BLOTO封闭缓冲液的特点包括:

- 常用** — 多年来, 脱脂牛奶一直被应用于各种蛋白质方法, 但由于其包含一些内源性的生物素, 因此不推荐用基于亲和素的技术
- 便捷** — 提供即用型的1X TBS溶液; 可根据需要稀释
- 易于使用** — 使用抗消泡剂和不含硫柳汞的防腐剂配制
- 灵活** — 适用于多种应用, 包括用作抗体稀释液

## Pierce快速封闭缓冲液

Thermo Scientific™ Pierce™ 快速封闭缓冲液的特点包括:

- 快速** — 可将一般的蛋白质免疫印迹开发过程缩短超过2小时
- 简单** — 优化的实验方案, 使蛋白质免疫印迹分析变得更简单
- 低背景** — 提供了与经典的蛋白质免疫印迹缓冲液相当的结果

表17. ELISA封闭缓冲液推荐

封闭缓冲液	封闭剂	产品优势	何时使用	可用规格 (货号)
ELISA 稀释液	BSA	<ul style="list-style-type: none"><li>与血清或牛奶溶液相比, 单一纯化的蛋白质与检测成分发生交叉反应的概率更低</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>在多种抗体和抗体组合中性能良好</li></ul>	浓缩物 (DS98200)
SuperBlock 封闭缓冲液	不含血清和生物素的单一纯化糖蛋白	<ul style="list-style-type: none"><li>配方基于蛋白质, 不含任何免疫球蛋白、白蛋白或内源性生物素, 使其在传统封闭缓冲液失效的许多情形下均可适用</li><li>与链霉亲和素系统兼容</li><li>10分钟内完成封闭</li><li>可用作蛋白质稳定剂, 用于干燥抗原或抗体包被的微孔板</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>储存包被板时作为蛋白质稳定剂</li><li>使用链霉亲和素系统</li></ul>	PBS (37515) TBS (37535) PBST (37516) TBST (37536)
Pierce 无蛋白封闭缓冲液	封闭缓冲液的成分不含蛋白	<ul style="list-style-type: none"><li>有助于最大限度地减少或消除与基于蛋白质的封闭缓冲液相关的交叉反应</li><li>蛋白样品和抗体的结合需要去除检测系统中所有可能的外源动物蛋白, 以避免交叉反应或所需探针功能失效</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>当基于蛋白质的封闭缓冲液引起高背景时使用</li></ul>	PBS (37572) TBS (37570) PBST (37573) TBST (37571)
Blocker酪蛋白封闭液	纯化酪蛋白	<ul style="list-style-type: none"><li>与血清或牛奶溶液相比, 成分为单一纯化蛋白的封闭液与检测组分发生交叉反应的概率更低</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>当脱脂牛奶封闭液的背景过高时使用</li></ul>	PBS (37528) TBS (37532)

# 蛋白稳定剂

## Guardian过氧化物酶结合稳定剂/稀释剂

Thermo Scientific™ Guardian™过氧化物酶结合稳定剂/稀释剂可保护HRP结合抗体及其他蛋白质的功能完整性和活性，稀释浓度极低，可长期保存(图7)。

### 特点：

- 保护HRP的活性** — 室温保存六个月(1:1,000稀释)或4°C保存12个月，HRP活性无明显下降
- 便捷** — 在冰箱中保存具有酶活性的即用型稀释液(1:1,000至1:100,000)-无需分装或冷冻
- 分析兼容性** — 只需加入您喜欢的封闭缓冲液，生成理想的稀释液，用于您基于HRP的ELISA系统，或者以1:1,000的储液形式保存HRP结合物，用于蛋白质免疫印迹，并在最终分析缓冲液中稀释
- 有助于节省成本** — 相比订购新的HRP结合物更便宜

使用Guardian过氧化物酶结合稳定剂/稀释剂，一般1 mg/mL抗体或链霉亲和素-HRP结合物可以稀释达100,000倍，置于4°C保存。HRP结合物的大多数ELISA和印迹应用一般需要将1 mg/mL的储液稀释至少1,000倍(至1 µg/mL)。灵敏的分析系统(如使用化学发光底物的系统)通常需要稀释至100,000倍(10 ng/mL)。使用Guardian溶液，可以预先配制这些1X工作浓度的HRP结合物，置于4°C可保存12个月或室温保存6个月。

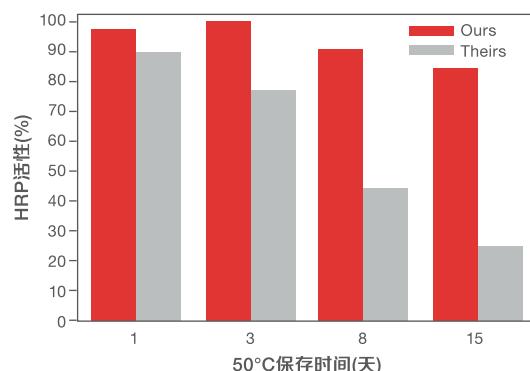


图7. 使用Guardian稳定剂/稀释剂可以提高HRP结合物的稳定性。使用Guardian稳定剂/稀释剂或其他供应商的HRP稳定剂，以1:1,000稀释链霉亲和素-HRP(1 mg/mL)，置于50°C保存。在各时间点，使用PBS/SuperBlock封闭缓冲液以1:5,000,000稀释HRP结合物，在已包被有生物素化BSA的白色反应板中孵育1小时。然后使用200 µL PBS-T洗涤反应板3次。将Thermo Scientific™ SuperSignal™ ELISA Femto最高灵敏度化学发光底物(100 µL)加入反应板中，孵育1分钟，随后使用光度计检测。将各个时间点的样本与对照进行比较(即未以稀释形式保存的HRP结合物)。50°C保存酶2周相当于4°C保存12个月。

表18. 推荐的蛋白稳定剂

货号	产品名称	规格
37552	Guardian™ 过氧化物偶联稀释剂/稀释剂	1 L
37548	Guardian™ 过氧化物偶联稀释剂/稀释剂	200 mL

# 检测底物

我们提供了品种齐全的高质量底物，可在免疫分析中用作检测试剂，包括化学发光、比色法和荧光底物。底物的选择取决于平台和分析的灵敏度要求。

## 免疫分析底物的选择标准

各种组分的优化对于利用免疫系统获得最佳结果至关重要。检测底物的易用性、灵敏度(即检测下限)、动态范围 (即检测的对数单位)及与成像设备的兼容性各不相同。表19提供了选择底物的一些一般指南。

表19. 检测底物比较。

	化学发光底物	比色底物	荧光底物
免疫分析	<ul style="list-style-type: none"><li>最高的灵敏度</li><li>快速生成信号</li><li>最大的线性范围; 更高的低端线性度</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>中等/低灵敏度</li><li>信号生成较慢</li><li>较小的线性范围; 较差的低端线性度</li><li>灵活(终止、非终止和动态分析)</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>高灵敏度</li><li>快速生成信号</li><li>较大的线性范围; 更高的低端线性度</li><li>灵活(终止、非终止和动态分析)</li></ul>
检测设备	光度计	分光光度计	荧光计

如需了解有关我们所有ELISA底物的更多信息，请登录 [thermofisher.com/elisastubstrates](http://thermofisher.com/elisastubstrates)

## 化学发光底物

我们可提供多种化学发光底物，用于HRP、AP或beta-Gal的免疫分析。

- Thermo Scientific™ SuperSignal™ ELISA Pico化学发光底物对于各种靶蛋白量均具有极佳的性能，可轻松优化，检测灵敏度高于入门级的比色底物。快速生成信号，信号稳定性达5至30分钟，具体取决于HRP浓度

- Thermo Scientific™ SuperSignal™ ELISA Femto最高灵敏度化学发光底物是适用于ELISA应用的最高灵敏度的底物之一。经过适当优化后，检测下限较常用的比色底物低1至10个数量级

## SuperSignal ELISA Pico化学发光底物

SuperSignal ELISA Pico化学发光底物已经过优化, 可生成高强度的光信号, 在基于荧光计的分析中提供出众的性能。SuperSignal ELISA Pico化学发光底物可在ELISA或其他溶液分析中提供更高的灵敏度, 用于酶检测和定量。利用荧光计检测相对光强度(RLU), 对ELISA (在试管或微孔板中进行)进行定量。

### 特点:

- 立即生成光线** – 在室温或37°C下可立即生成高强度的信号; 发射光线波长为425 nm
- 高信噪比** – 最低的背景
- 高灵敏度** – 在ELISA中可检测低至皮克级的蛋白质
- 便捷** – 可常温运输、室温保存
- 高稳定性** – 工作溶液在8小时内具有一致的性能, 24小时活性仅下降10%
- 灵活** – 可读取黑色或白色不透明反应板的信号

SuperSignal ELISA Femto最高灵敏度化学发光底物使用了改进的增强剂系统, 可满足高通量筛选(HTS)应用和诊断分析开发应用的需要。SuperSignal ELISA Femto最高灵敏度化学发光底物只需加入少量可溶性HRP, 1分钟内即可生成可检出的光线, 每个分析可节省至多30分钟。因此, SuperSignal ELISA Femto最高灵敏度化学发光底物适用于运行能力达100,000个分析的机器设备HTS应用。

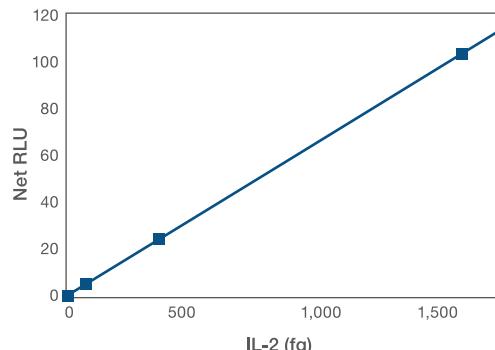


图8. 靶蛋白的飞克级检测和出众的低端线性度。IL-2 ELISA的剂量反应曲线显示, 使用SuperSignal ELISA Femto最高灵敏度化学发光底物可获得极佳的低端线性和令人难以置信的灵敏度。SuperSignal ELISA Femto最高灵敏度化学发光底物可检测低至168 fg的IL-2。低于1,600 fg的IL-2生成的信号曲线的R<sup>2</sup>值为1.00。

## SuperSignal ELISA Femto最高灵敏度化学发光底物

SuperSignal ELISA Femto最高灵敏度化学发光底物可在化学发光ELISA应用中实现出众的蛋白检测和低端线性度。底物可在ELISA或其他溶液分析中提供更高的灵敏度, 用于酶检测和定量。利用荧光计检测相对光强度, 对ELISA (在试管或微孔板中进行)进行定量。

### 特点:

- 立即生成光线** – 在室温和37°C下可立即生成高强度的信号; 发射光线波长为425 nm
- 更高的低端线性度** – 轻松检测少量蛋白质, 具有高信噪比和剂量反应曲线低端线性度
- 高灵敏度** – 在ELISA中实现飞克级的靶蛋白检测(图8)
- 缩短分析时间** – 高灵敏度可减少孵育步骤
- 稳定性** – 室温保存6个月或4°C至少12个月, 具有6小时的工作溶液稳定性

表20. 推荐的化学发光底物

酶	底物	货号 (总次数 <sup>1</sup> )	Emax <sup>3</sup> Color	检测限 <sup>2</sup>	一抗(1°)和二抗(2°) 稀释液 <sup>2</sup>
HRP	SuperSignal ELISA Pico	37070 (1000孔)	425 nm	~ 500 fg/孔 (5 pg/mL)	1° 1:1,000 2° 1:10,000到1:50,000
		37069 (2500孔)	蓝色/绿色		
HRP	SuperSignal ELISA Femto	37075 (1000孔)	425 nm	~ 170 fg/孔 (1.7 pg/mL)	1° 1:1,000 2° 1:50,000 至 1:100,000
		37074 (2500孔)	蓝色/绿色		

<sup>1</sup> 基于96孔板的检测总数。参阅产品说明了解补充信息和确定检测次数。<sup>2</sup> 检测限和建议抗体稀释度(基于1 mg/mL 储备液)是常规的优化手段。个别检测可能需要超出文中建议范围的条件。<sup>3</sup> 提供峰值发射波长供参考。但是,为了获得最佳灵敏度,请使用酶标仪测量总化学发光。

# AP和HRP的比色底物

我们可提供下列比色法(又称为显色)底物, 用于使用AP或HRP的免疫分析开发。

- **PNPP (对硝基苯磷酸酯, 二钠盐)**是使用广泛的AP检测底物, 可用于ELISA应用。PNPP可生成黄色的水溶性反应产物, 吸光度为405 nm。PNPP提供结晶粉末、5 mg片剂或即用型配方
- **ABTS (2,2' -联氮双[3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸]二铵盐)**可用于检测HRP并生成水溶性的绿色最终反应产物。绿色产物有两个主吸收峰-410 nm和650 nm。用于HRP检测时, ABTS的灵敏度低于OPD和TMB底物。显色反应较慢(约20分钟), 如果OPD或TMB底物会因为其高灵敏度产生不可接受的背景, 则该方法具有优势。ABTS提供片剂或即用型配方

- **OPD (邻苯二胺盐酸盐)**常用于检测HRP并生成水溶性的黄色-橙色反应产物。反应产物的最大吸收波长为492 nm。OPD提供粉末或片剂形式, 溶解至Thermo Scientific™ Pierce™稳定的过氧化物缓冲液或过氧化氢缓冲液中即可轻松配制
- 检测HRP时, **TMB (3,3',5,5' -四甲基联苯胺)**可溶性底物呈蓝色。反应产物的主吸收峰为370 nm和652 nm。加入硫酸或磷酸后, 颜色变为黄色, 最大吸收波长为450 nm。TMB非常敏感, 如果蛋白质或抗体过多, 则会产生大量背景信号。TMB的氧化速度较其他HRP底物更快, 因此显色反应速度更快

表21. 推荐的ABTS、OPD、PNPP和ONPG底物

底物	酶	优势、规格	货号(总次数 <sup>1</sup> )	吸光度和颜色	检测限 <sup>2</sup>	推荐的一抗(1°)和二抗(2°)稀释液 <sup>2</sup>
<b>ABTS (2,2' -谷氨酰胺[3-乙基苯并噻唑-6-磺酸]-二铵盐)</b>						
1-Step ABTS 底物溶液	HRP	即用型	37615 (2000 孔) 34029 (10000 孔)	410 nm (650 nm) 绿色	~250 pg/孔 (2.5 ng/mL)	1°- 1:1,000 2°-1:5,000 到 1:50,000
<b>OPD (邻苯二胺盐酸盐)</b>						
OPD 底物	HRP	已知重量 片剂	34006 (片剂) 34005 (25 g)	490 nm (450 nm) 绿色(橙色)	~7 pg/孔 (70 pg/mL)	1°- 1:1,000 2°-1:5,000 到 1:50,000
<b>PNPP (对硝基苯磷酸盐)</b>						
1-Step PNPP 底物溶液	AP	即用型	37621 (1000 孔)  37620 (105片, 缓冲液试剂盒)	405 nm 黄色	~10 ng/孔 (100 ng/mL)	1°- 1:500 2°-1:5,000 到 1:20,000
PNPP 底物	AP	预称重片剂	34047 (105 片)  34045 (25 g)	405 nm 黄色	~10 ng/孔 (100 ng/mL)	1°- 1:500 2°-1:5,000 到 1:20,000
<b>ONPG (邻硝基苯基-β-D-吡喃半乳糖苷)</b>						
ONPG 底物	Gal		34055 (5 g)	410 nm 黄色	~10 ng/孔 (100 ng/mL)	1°- 1:500 2°- 1:5,000

<sup>1</sup> 参阅产品说明了解补充信息和确定检测次数。

<sup>2</sup> 检测限和建议抗体稀释度(基于1 mg/mL 储备液)是常规的优化手段。个别检测可能需要超出文中建议范围的条件。

## Pierce 1-Step Ultra TMB ELISA底物

Thermo Scientific™ Pierce™ 1-Step Ultra TMB ELISA底物可检测HRP活性，加入硫酸或磷酸终止液后由蓝色(Amax=370 nm和652 nm)变为黄色(Amax=450 nm)。1-Step Ultra TMB是最灵敏的显色底物。

### 特点：

- 灵敏度** — 在所有TMB底物中具有最高的灵敏度(2 pg/孔)和信噪比
- 即用型** — 单一组分，试剂中不含DMF或DMSO
- 稳定** — 三年的保质期
- 价格有竞争力** — 提供1 L包装的现货产品
- 安全** — 无致癌性
- 便捷** — 无需其他试剂或过滤

TMB是ELISA中最常用的HRP检测显色底物，可提供几种不同的形式。1-Step TMB底物是单组分的底物，使用前无需配制。与其他商品化的底物不同，它们不含DMF或DMSO。

1-Step Ultra TMB底物的灵敏度是所有TMB底物中最高的，然后是Thermo Scientific™ Pierce™ 1-Step Turbo TMB- 和Thermo Scientific™ Pierce™ 1-Step Slow TMB-ELISA底物。1-Step Turbo TMB底物的灵敏度与OPD底物相当(约1 mg/mL浓度)。1-Step Slow TMB底物具有中等灵敏度-高于ABTS，但低于OPD或1-Step Turbo TMB底物。1-Step Slow TMB是适用于动力学研究的理想底物。

表22. 推荐的TMB底物

底物	酶	优势、规格	货号(总次数 <sup>1</sup> )	吸光度和颜色	检测限 <sup>2</sup>	推荐的一抗(1°)和二抗(2°)稀释液 <sup>2</sup>
<b>TMB (3,3',5,5' -四甲基联苯胺)</b>						
1-Step Ultra TMB	HRP	最敏感的显色底物，即用型	34028 (2500 孔)	450nm (650nm) 黄色(蓝色)	~2 pg/孔 (20 pg/mL)	1°- 1:1,000 2°-1:5,000 到 1:50,000
1-Step Slow TMB	HRP	动力学研究的理想底物，即用型	34024 (2500 孔)	450 nm (652 nm) 黄色(蓝色)	~8 pg/孔 (80 pg/mL)	1°- 1:1,000 2°-1:5,000 到 1:50,000
1-Step Turbo TMB	HRP	在 5-30 分钟内快速检测 HRP 活性，即用型	34022 (2500 孔)	450 nm (652 nm) 黄色(蓝色)	~7 pg/孔 (70 pg/mL)	1°- 1:1,000 2°-1:5,000 到 1:50,000
TMB 底物试剂盒	HRP	两部分试剂盒	34021 (4000 孔)	450 nm (652 nm) 黄色(蓝色)	~6 pg/孔 (60 pg/mL)	1°- 1:1,000 2°-1:5,000 到 1:50,000
TMB 发色溶液	HRP	即用型	00-2023 (500 mL)	450 nm (652 nm) 黄色(蓝色)		

<sup>1</sup> 参阅产品说明了解补充信息和确定检测次数。

<sup>2</sup> 检测限和建议抗体稀释度(基于1 mg/mL 储备液)是常规的优化手段。个别检测可能需要超出文中建议范围的条件。

# 荧光底物

下列荧光底物可用于使用HRP的ELISA。

- Thermo Scientific™ QuantaBlu™ 荧光底物具有较大的线性检测范围和低端线性度, 适用于HRP检测。稳定的荧光反应产物的Emax/Amax为420 nm/325 nm, 可进行终止、非终止和动态分析; 优于更灵敏的化学发光底物。
- Thermo Scientific™ QuantaRed™ 增强型荧光底物是适用于HRP检测的最灵敏的荧光ELISA底物。荧光反应产物(试卤灵)可稳定达四小时, 反应终止时的Emax/Amax为585 nm/570 nm。红移的试卤灵反应产物可实现特定波长的检测, 其受到生物学样本中常见的自发荧光的干扰较少。

表23. 推荐的荧光底物

酶	优势、规格	货号(总次数 <sup>1</sup> )	Emax/Amax (发射/激发)	检测限 <sup>2</sup>	推荐的一抗(1°)和 二抗(2°)稀释液 <sup>2</sup>
HRP	QuantaBlu Fluorogenic 底物	15169 (2700孔)	420 nm/ 325 nm	~ 500 fg/孔 (5 pg/mL)	1° 1:500 2° 1:5,000到1:20,000
HRP	QuantaBlu 荧光动力学底物	15162 (2700孔)	420 nm/ 325 nm	~ 500 fg/孔 (5 pg/mL)	1° 1:500 2° 1:5,000到1:20,000
HRP	QuantaRed 增强型化学荧光 底物	15159 (1000孔)	585 nm/ 570 nm	~ 400 fg/孔 (4 pg/mL)	1° 1:1,000 2° 1:5,000到1:20,000
HRP	Amplex Red 试剂	A12222 (200次检测)	571 nm/ 585 nm		
HRP	Amplex UltraRed 试剂	A36006 (3400 rxns)	490–550 nm/ 580–590 nm		

<sup>1</sup> 参阅产品说明了解补充信息和确定检测次数。

<sup>2</sup> 检测限和建议抗体稀释度(基于1 mg/mL 储备液)是常规的优化手段。个别检测可能需要超出文中建议范围的条件。

- Invitrogen™ Amplex™ Red试剂是一种高度灵敏且稳定的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>探针, 亦是我们的过氧化物酶的最佳荧光底物之一。由于多种不同的酶反应均可生成H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 因此研究人员采用Amplex Red试剂可以检测多种不同酶的活性(Amplex Red分析试剂盒)。
- Invitrogen™ Amplex™ UltraRed试剂进一步提升了我们独特的Amplex Red试剂的性能, 可在过氧化物酶或过氧化物酶结合的酶分析中提供更明亮的荧光和更高的灵敏度(摩尔级)。

# 抗体与检测探针

ABfinity™重组兔单抗, 可用于几乎各种蛋白质和翻译后修饰的探测、染色、定位、纯化和检测。我们的抗体产品还包括与多种荧光和酶标记偶联的二抗, 如Invitrogen™ Alexa Fluor™ 和Thermo Scientific™ DyLight™荧光染料, 用于高灵敏度检测。我们可提供14,000多种ELISA产品系列, 从抗体对到灵敏且准确的ELISA试剂盒, 可用于超过800种靶点。我们还提供了酶和荧光染料标记的链霉亲和素和亲和素结合物。

## 超过120,000种产品:

- 单克隆抗体-小鼠、大鼠、兔
- 多克隆抗体-山羊、兔
- 用于流式细胞仪和细胞成像的抗体
- 剪切位点特异性抗体
- 翻译后修饰抗体, 包括磷酸化、乙酰化、甲基化等

## 偶联物:

- Alexa Fluor荧光染料
- DyLight荧光染料
- Invitrogen™荧光染料
  - Pacific Blue™、Pacific Green™ 和Pacific Orange™染料
  - pHrodo™ Red和pHrodo™ Green染料
- 常用的酶, 如辣根过氧化物酶(HRP)和碱性磷酸酶(AP)
- 生物素
- Invitrogen™ Qdot™纳米晶体
- 传统的荧光基团和标记物

# 一抗

我们可提供数千种高度特异性的神经生物学一抗，适用于各种分析。这些抗体已经过多种测试验证，包括蛋白质免疫印迹、免疫细胞化学、免疫组织化学、ELISA、免疫比浊、侧向层析和流式细胞分析。

我们的产品系列包括直接靶向分化抗原簇(CD)标志物、癌症标志物、免疫学靶点、干细胞标志物、细胞信号传导靶点、细胞因子和趋化因子、细胞器和细胞结构靶点、细胞连接和粘附分子及神经生物学相关的重要靶点的抗体。

## 特点：

- **已经过验证** — 利用广泛的验证，获得高度特异且一致的抗体
- **稳定** — 适用于多种应用，包括免疫荧光、免疫组织化学和流式细胞术
- **选择范围广** — 多种独特抗体可供选择
- **质量** — 大部分抗体是在ISO 9001标准下生产的，大部分靶点抗体已获得GMP认证
- **便捷的抗体搜索工具** — 请登录 [thermofisher.com/antibodies](http://thermofisher.com/antibodies)，使用我们的抗体搜索工具，查找适合您应用的一抗

## 应用：

- ELISA
- 免疫细胞化学
- 免疫荧光(图13和14)
- 免疫组织化学(图15)
- 免疫沉淀
- 凝集
- 免疫扩散
- 竞争分析
- 流式细胞术
- ChIP分析
- 细胞毒性试验
- 电子显微镜
- FACS
- FRET
- 荧光淬灭
- 功能分析
- 感染
- 凝胶迁移实验
- 血凝试验
- 免疫放射测定
- 抑制试验
- 中和
- 放射免疫测定
- 蛋白质免疫印迹

## ABfinity重组抗体

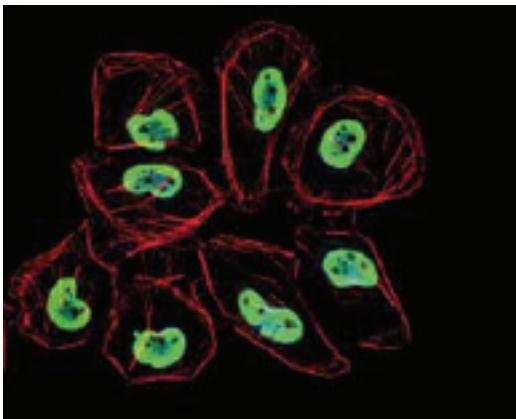


图13.Ku (p70/p80)的免疫荧光分析(绿色)显示了HeLa细胞的细胞核染色。采用含有0.1% Triton™ X-100试剂的TBS破膜处理福尔马林固定的细胞5-10分钟, 采用3% BSA-PBS室温封闭30分钟。采用1:200稀释(在3%BSA-PBS中稀释)的Ku (p70/p80)单克隆抗体检测细胞, 在加湿培养箱中4°C过夜孵育。使用PBST冲洗细胞, 采用PBS稀释的荧光染料结合二抗室温避光孵育。使用红色荧光的鬼笔环肽染色F肌动蛋白(红色), 使用DAPI染色细胞核(蓝色)。60x放大采集图像。

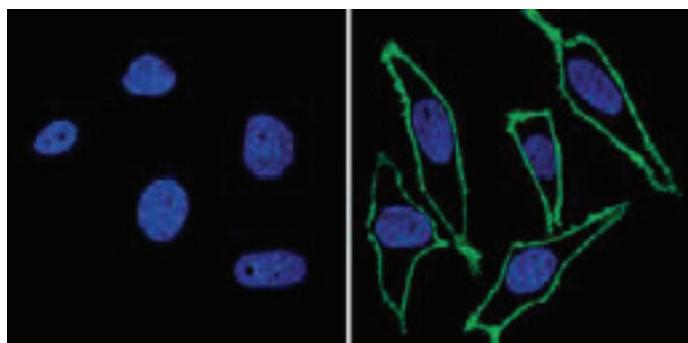


图14.使用Invitrogen™表皮生长因子受体(EGFR)抗体(H11)的免疫荧光。EGFR单克隆抗体的免疫荧光分析显示膜染色的HeLa细胞(绿色, 右), 以不含一抗的阴性对照作为比较(左)。使用荧光染料结合的二抗孵育细胞。使用红色荧光的鬼笔环肽染色F肌动蛋白(红色), 使用Hoechst或DAPI染料染色细胞核(蓝色)。

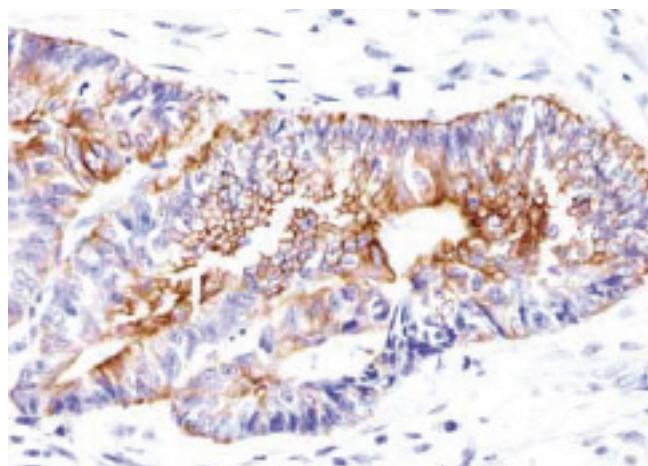


图15.细胞角蛋白的免疫组织化学分析显示了石蜡处理的人结肠癌细胞的细胞质中的阳性染色。利用抗原修复法暴露靶蛋白, 先使用10 mM柠檬酸钠 (pH 6.0)处理, 然后再微波加热8-15分钟。抗原修复后, 将组织置于3%过氧化氢-甲醇中室温封闭15分钟, 使用ddH<sub>2</sub>O和PBS洗涤, 采用1:100稀释(在3% BSA-PBS中稀释)的细胞角蛋白单抗检测, 在加湿培养箱中4°C过夜孵育。在PBST中充分洗涤组织, 使用HRP结合的二抗检测, 随后使用DAB试剂盒进行比色检测。采用苏木精对组织进行复染, 然后使用乙醇和二甲苯脱水制备封片。

Invitrogen™ ABfinity™重组兔单克隆抗体的生产流程是:首先免疫动物, 进行功能筛选后, 将免疫原特异性抗体基因克隆至哺乳动物细胞高效表达载体内。Abfinity单克隆抗体与从血清分离或者利用杂交瘤细胞生产的兔单克隆类似, 但特异性和灵敏度更高(图16)。由于Abfinity重组抗体来源于抗体重链和轻链的克隆DNA序列, 因此它们不易出现细胞系变异或批次间差异, 在非动物源性生产系统中可获得最佳特异性和性能。

### 特点:

- **Abfinity单克隆抗体** — 具有小鼠单克隆的特异性, 但在多种应用领域具有更佳的性能
- **Invitrogen™ ABfinity™寡克隆抗体** — 一组单克隆抗体, 具有多克隆的适应性(或稳定性)和灵敏度以及单克隆的特异性

### Abfinity单克隆: 高度一致的性能

单克隆抗体在抗体工具中具备最佳的特异性; 但由于生产过程的特点, 批次间差异和细胞系变异都是其面临的潜在问题。因此, 传统的单克隆抗体的性能具有批次间差异, 需要您对每个批次的产品都进行重新验证, 不可避免的投入宝贵的样本和时间。由于ABfinity重组单克隆抗体(和ABfinity寡克隆抗体)来源于抗体重链和轻链的克隆DNA序列, 因此它们不易出现细胞系漂移或批次间差异, 可获得最佳特异性和稳定的性能。

## ABfinity寡克隆：兼具两者的优势

多克隆抗体可以识别靶点上的多个抗原位点，因此灵敏度通常高于单克隆抗体。但是，通过免疫动物生成的标准多克隆抗体通常存在批次间一致性的问题。每次免疫都会生成不同的抗体谱，因此批次间的差异性极高。ABfinity重组寡克隆抗体包括多种重组单克隆抗体，兼具了两者的优势-多克隆抗体的灵敏度和单克隆的特异性，提供了只有重组抗体方能提供的一致性。

ABfinity寡克隆抗体的功能与多克隆抗体相同，可识别靶点上的多个抗原表位，因此，与单克隆抗体相比，其对于低丰度靶点的检测灵敏度更高。但寡克隆抗体的最大优势是混合物中的轻链和重链是已知的，每个批次都可以生产出该群体，从而克服了多克隆抗体常见的生物差异性问题。

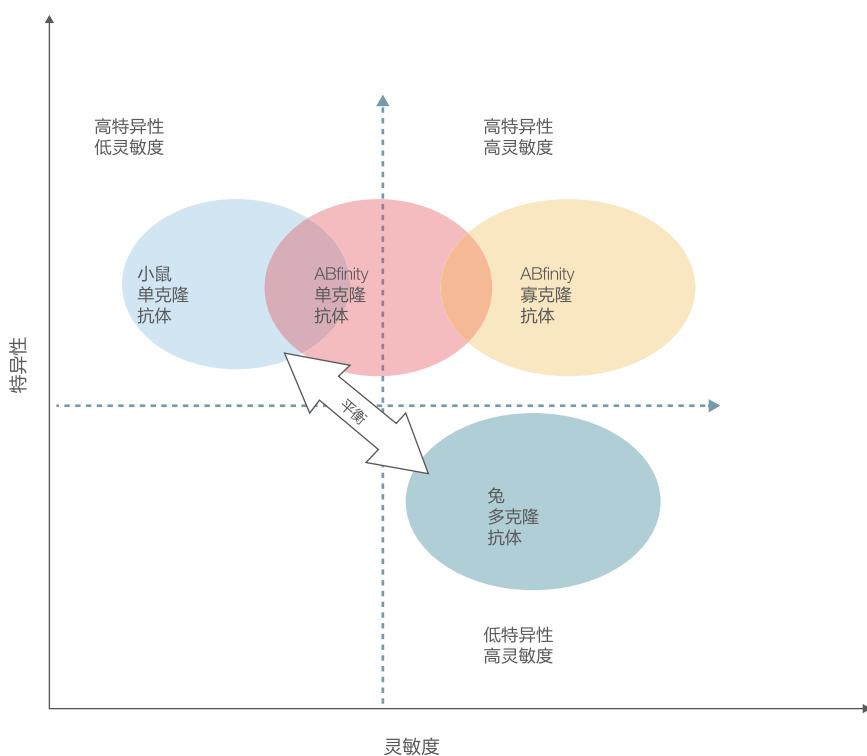


图9. 经典的单克隆和多克隆抗体与ABfinity重组单克隆和多克隆抗体的灵敏度和特异性比较。

ABfinity抗体仅供研究使用。

## 二抗

二抗可用于目标抗原的间接检测。二抗具有明显的优势，如通过信号放大提高灵敏度以及标记和检测的灵活性更高。

我们已开发出了各种高质量的结合和未结合的二抗，可用于一抗的荧光、比色和化学发光检测，适用于多种应用领域，如细胞成像和流式细胞术。我们的Alexa Fluor染料和DyLight染料结合的二抗可提供极其明亮且光稳定的结合物。我们的所有二抗均可用于各种应用领域的目标种属。

我们还提供了众多引用率很高的研究抗体，其中许多结合了各种染料和酶(表25)：

- Alexa Fluor, Alexa Fluor Plus和DyLight荧光染料
- 经典荧光染料, 如FITC、R-藻红蛋白(RPE)和别藻蓝蛋白(APC)
- 生物素
- 酶结合物, 如HRP和AP

### 荧光和酶结合的二抗

荧光染料结合的二抗提供了蛋白质研究中重要的工具，适用于诸多应用领域，包括荧光细胞成像、蛋白质免疫印迹和免疫组织化学。使用荧光标记的二抗的优点包括信号更强、多重分析能力及使用方便。我们可为您的研究提供各种荧光染料结合的二抗，包括逾60种不同的荧光染料和染料组合，以及针对多种特定靶点和宿主种属的荧光量子点。此外，我们还可提供HRP-和AP-标记的抗体。

#### 特点：

- 有Alexa Fluor染料、DyLight染料、Qdot纳米晶体、生物素、HRP、AP等可供选择
- 亲和纯化的。一些抗体可提供交叉吸附形式，以最大程度地降低交叉反应性

表24. 二抗和二抗结合物方案概述。

反应性	Alexa Fluor Plus 染料	Alexa Fluor染料	DyLight染料	其他荧光结合物	酶和生物素标 记的结合物	目标Ig类型
抗鸡	Alexa Fluor Plus 405	Alexa Fluor 350	DyLight 350	FITC	HRP标记的酶	IgG
抗山羊	Alexa Fluor Plus 488	Alexa Fluor 405	DyLight 405	TRITC	AP标记的酶	IgM
抗小鼠	Alexa Fluor Plus 555	Alexa Fluor 488	DyLight 488	若丹明	生物素	IgA
抗人	Alexa Fluor Plus 594	Alexa Fluor 532	DyLight 550	Texas RedTm染料	更多....	IgG2a
抗兔	Alexa Fluor Plus 647	Alexa Fluor 546	DyLight 594	Texas Red-X染料		IgG1
抗大鼠	Alexa Fluor Plus 680	Alexa Fluor 568	DyLight 633	RPE		更多.....
更多.....	Alexa Fluor Plus 800	Alexa Fluor 680	DyLight 650	APC		
		Alexa Fluor 647	DyLight 680	QdotTm探针		
		Alexa Fluor 750	DyLight 755	Pacific染料		
			Dylight 800	更多.....		
			DyLight 800 4X PEG			

如需了解有关我们品种繁多的二抗及二抗结合物的更多信息，请登录  
[thermofisher.com/secondary-antibody](http://thermofisher.com/secondary-antibody)

# Superclonal二抗

Invitrogen™ Superclonal™二抗代表了重组抗体技术的一大突破, 可以精准地检测小鼠、兔和山羊一抗, 适用于多种应用领域。独有的筛选和生产流程可以制备特定的重组山羊或兔二抗混合物, 兼具单克隆抗体精确结合表位的高准确度, 以及多克隆抗体覆盖多表位(如 H+L)的高灵敏度。我们的每种superclonal二抗的配方都已经过优化, 有助于获得出众的ELISA、蛋白质免疫印迹和细胞成像结果。

特点:

- 专为消除一抗检测过程中的交叉反应性而研发(图17)
- 重组单克隆抗体可实现精准检测
- 可识别目的IgG分子的重链和轻链表位(H+L)
- 已经过筛选和优化, 适用于细胞成像、ELISA和蛋白质免疫印迹应用
- 有四种类型可供选择: 山羊抗小鼠(GAM)、山羊抗兔(GAR)、兔抗小鼠(RAM) 和兔抗山羊(RAG)抗体
- 提供未结合和结合有生物素、HRP或Alexa Fluor染料结合物的产品

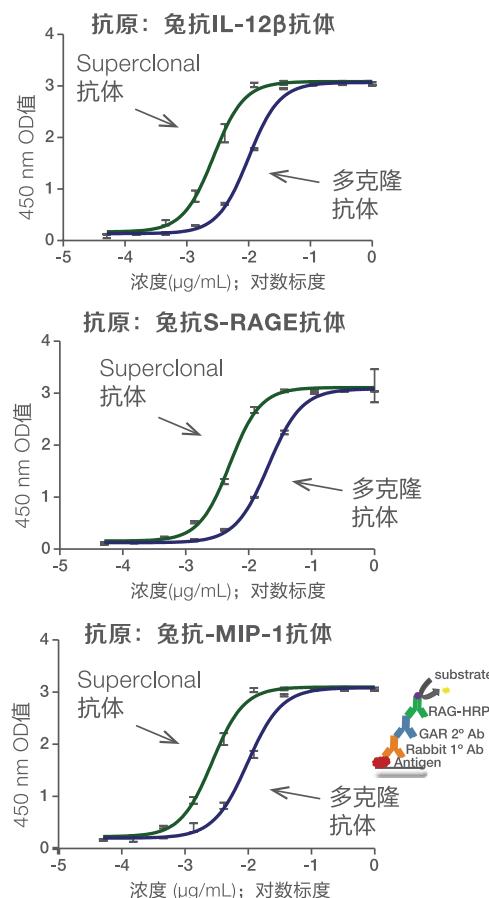


图10. 数据显示, 在ELISA分析中, 未结合的山羊抗兔IgG(H+L) Superclonal二抗和山羊抗兔IgG (H+L)多克隆二抗具有更佳的性能。(A) 利用间接ELISA检测重组抗原人IL-12 $\beta$ 、(B) S-RAGE和(C) MIP-1 $\beta$ , 分别使用各一抗和连续稀释的(3倍起始浓度1  $\mu$ g/mL; 对数图显示) Superclonal 或多克隆二抗测试性能。使用HRP结合的兔抗山羊(H+L)Superclonal二抗进行检测(1:2,500)。进行非线性回归分析。Superclonal抗体的EC50分别为0.007(IL-12 $\beta$ )、0.003 (S-RAGE)和0.005 (MIP-1 $\beta$ )  $\mu$ g/mL, 多克隆抗体分别为0.01 (IL-12 $\beta$ )、0.01 (S-RAGE)和0.02 (MIP-1 $\beta$ )  $\mu$ g/mL。

## 赛默飞世尔科技

### 上海

上海市浦东新区新金桥路27号3,6,7号楼  
邮编 201206  
电话 021-68654588\*2570

上海市浦东新区金科路2517号中国芯科技园A座  
邮编 201203  
电话 021-80125200

### 成都

成都市临江西路1号锦江国际大厦1406 室  
邮编 610041  
电话 028-65545388\*5300

### 北京

北京市东城区北三环东路36号环球贸易中心C座7层/8层  
邮编 100000  
电话 010-87946888

### 沈阳

沈阳市沈河区惠工街10号卓越大厦3109 室  
邮编 110013  
电话 024-31096388\*3901

### 广州

广州国际生物岛寰宇三路36、38号合景星辉广场北塔204-206 单元  
邮编 510000  
电话 020-82401600

### 西安

西安市高新区科技路38号林凯国际大厦  
1006-08单元  
邮编 710075  
电话 029-84500588\*3801

### 南京

南京市中央路201号南京国际广场南楼1103室  
邮编 210000  
电话 021-68654588\*2901

### 武汉

武汉市东湖高新技术开发区高新大道生物医药园路  
生物医药园C8栋5楼  
邮编 430075  
电话 027-59744988\*5401

### 昆明

云南省昆明市五华区三市街6号柏联广场写字  
楼908单元  
邮编 650021  
电话 0871-63118338\*7001

欲了解更多信息，请扫描二维码关注我们的微信公众账号



赛默飞  
官方微信



赛默飞  
生命科学小助手

免费服务电话: 800 820 8982/400 820 8982

信息咨询邮箱: cnbidmarketing@thermofisher.com

[www.thermofisher.cn](http://www.thermofisher.cn)

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC

仅供研究使用。不可应用于诊断流程。不得转售。© 2023 Thermo Fisher Scientific Inc.保留所有权利。除非另有说明，所有商标均为Thermo Fisher Scientific及其子公司所有。Cy是Cytiva的注册商标。Cytek、Aurora和SpectroFlo是Cytek Biosciences的商标。DRAQ7是BioStatus Limited的商标。Excel是Microsoft Corp的商标。Brilliant Violet、Brilliant Ultra Violet及Super Bright聚合染料是Becton, Dickson and Company的商标或注册商标，并在其许可下使用。

赛默飞世尔科技在全国有共21个办事处。本资料中的信息，说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。