



## BCIP/NBT（用于 WB 和 IHC）底物说明书

货号	规格
BF06079-10	10ml
BF06079-20	20ml
BF06079-50	50ml
BF06079-100	100ml

储存：常温运输（勿超过30℃），2-8℃储存，有效期1年。

### 一、产品描述

5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl Phosphate (5-溴-4-氯-3-吲哚基-磷酸盐), BCIP/NBT（四唑硝基蓝）是碱性磷酸酶底物，产物为深蓝色，在碱性磷酸酯酶的催化下，BCIP被水解，水解产物与NBT发生反应，形成不溶性的深蓝色至蓝紫色的NBT-formazan。

本品为即用型，直接使用，通常用于标记物为碱性磷酸酶的WB，显色稳定，本底低，也可用于标记物为碱性磷酸酶（AP）的免疫组化染色。

### 二、使用方法

1. 膜或组织切片在最后一次洗涤完毕后，加入适量BCIP/NBT染色工作液。
2. 室温避光孵育5-30分钟或更长时间（可长达24小时），直至显色至预期深度。
3. 用蒸馏水洗涤1-2次即可终止显色反应。
4. 膜标本可干燥后避光保存；组织切片或细胞样品，显色反应终止后，可以用中性红复染。

### 三、问题及解决办法

1. 背景过高
  - a. 加一抗之前封闭，用与二抗动物种类相同的动物血清(10% v/v) 一般可得到很好的结果。其它封闭剂包括 10% BSA, 0.05% TWEEN-20, or 3% 脱脂奶粉。当用生物素-亲和素系统时不要用奶封闭
  - b. 减少染色时间
  - c. 选择合适的结合物浓度

2. 不显色或显色过浅
  - a. 调整一抗的浓度
  - b. 调整二抗的浓度
  - c. 确认酶标抗体是否有活性
  - d. 考虑使用生物素-亲和素放大系统
  - e. 延长染色时间
  - f. 调整样品向硝酸纤维素膜转移的时间
  - g. 增加样品量