
(本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断!)

Western Blot 试剂盒

Western Blot Detection Kit

产品货号: E-IR-R304A/E-IR-R304B

产品规格: 50 Assays

使用前请仔细阅读说明书。如果有任何问题，请通过以下方式联系我们：

电话: 400-999-2100

邮箱: techsupport@elabscience.cn

网址: www.elabscience.cn

具体保质期请见试剂盒外包装标签。请在保质期内使用试剂盒。

联系时请提供产品批号(见试剂盒标签)，以便我们更高效地为您服务。

目录

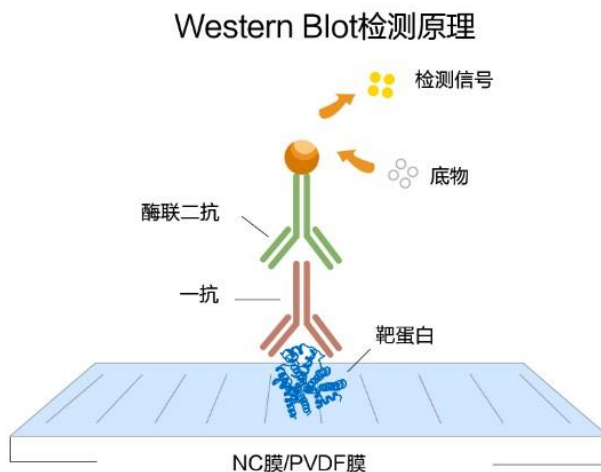
| | |
|--|----|
| 产品介绍..... | 3 |
| 检测原理..... | 3 |
| 产品组分..... | 4 |
| 使用说明..... | 5 |
| 附录表..... | 9 |
| 表 1 分离胶的配制..... | 9 |
| 表 2 浓缩胶的配制..... | 10 |
| 表 3 蛋白分离线性范围对照表..... | 10 |
| 附录 1-试剂类..... | 11 |
| RIPA 裂解液（强）..... | 11 |
| BCA 蛋白浓度测定试剂盒..... | 12 |
| 预染蛋白 Marker（10~180 kDa）..... | 13 |
| 脱脂奶粉..... | 15 |
| Goat Anti-Mouse IgG(H+L)(peroxidase/HRP conjugated)..... | 16 |
| Goat Anti-Rabbit IgG (H+L)(peroxidase/HRP conjugated)..... | 17 |
| 化学发光（ECL）底物液..... | 18 |
| 附录 2-缓冲液类..... | 19 |
| PBS 缓冲液..... | 19 |
| 5×SDS 上样缓冲液..... | 20 |
| 电泳缓冲液（10×）..... | 21 |
| 转膜缓冲液（10×）..... | 22 |
| TBST 缓冲液（10×）..... | 23 |
| 附录 3-耗材类..... | 24 |
| PVDF 膜(0.45μm, 8.5 cm×6 cm)..... | 24 |
| PVDF 膜(0.22μm, 8.5 cm×6 cm)..... | 25 |

产品简介

Western Blot 检测试剂盒操作简便、灵敏度高、背景低、稳定性强，包含经典 WB 实验所需试剂，如蛋白提取试剂，ECL 底物等。

检测原理

免疫印迹用于鉴定能够与特异性抗体相互作用的大分子抗原（一般为蛋白质）并测定抗原的大小。蛋白质首先通过 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离，再通过电泳转移到固相支持物上，固相支持物包括硝酸纤维素膜，聚偏乙烯二氟（PVDF）膜和阳离子尼龙膜等。首先把膜上未反应的位点封闭起来以抑制抗体的非特异性吸附，这样固定的蛋白即可与特异性的多克隆或单克隆抗体相互作用。最后通过放射，生色或化学发光的方法进行定位。



产品组分

| 产品编号 | 产品名称 | 规格 | 储存温度 | 保质期 |
|--------------------------|--|----------|------|-------|
| E-BC-R327 | RIPA 裂解液 (强) RIPA Lysis Buffer (Strong) | 5 mL | -20℃ | 12 个月 |
| E-BC-R287 | PMSF (蛋白酶抑制剂) 100 mM PMSF | 50 μL | -20℃ | 12 个月 |
| E-BC-R250 | 原钒酸钠 (磷酸酶抑制剂) 100 mM Na ₃ VO ₄ | 50 μL | -20℃ | 12 个月 |
| E-BC-K318 | 蛋白浓度测定试剂盒 BCA Protein Colorimetric Assay Kit | 48 T | RT | 12 个月 |
| E-BC-R288 | 5 × SDS 上样缓冲液 5 × SDS Loading Buffer | 1 mL×2 | -20℃ | 12 个月 |
| E-BC-R273 | 预染蛋白 Marker (10~180 kDa) Pre-stained Protein Marker (10~180 kDa) | 25 μL | -20℃ | 12 个月 |
| E-BC-R331 | 电泳缓冲液 (10×) Electrophoresis Buffer (10 ×) | 125 mL×2 | RT | 12 个月 |
| E-BC-R333 | 转膜缓冲液 (10×) Transmembrane Buffer (10 ×) | 125 mL×2 | 4℃ | 12 个月 |
| E-BC-R266/ E-BC-R329* | PVDF Membrane (0.45 μm,8.5×6cm)/ PVDF Membrane (0.22 μm, 8.5×6cm) * | 5 pieces | RT | 12 个月 |
| E-BC-R337 | 脱脂奶粉 Skim Milk Powder | 15 g | RT | 12 个月 |
| E-AB-1003 | Goat Anti-Rabbit IgG (H+L) (peroxidase/HRP conjugated) | 20 μL | -20℃ | 12 个月 |
| E-IR-R307A | 化学发光 (ECL) 底物 A 液 ECL Substrate A | 15 mL | 4℃ | 12 个月 |
| E-IR-R307B | 化学发光 (ECL) 底物 B 液 ECL Substrate B | 15 mL | 4℃ | 12 个月 |
| E-BC-R187 | PBS 缓冲液 (10×) PBS Buffer, pH7.4 (10×) | 100 mL | RT | 12 个月 |
| E-BC-R335 | TBST 缓冲液 (10×) TBST Buffer, pH7.4 (10×) | 125 mL×2 | 4℃ | 12 个月 |

*货号 E-IR-R304A 的试剂盒中只含有 PVDF 膜(0.45 μ m)(货号:E-BC-R266);
建议用于分子质量大于 20kDa 的蛋白质。

*货号 E-IR-R304B 的试剂盒中只含有 PVDF 膜(0.22 μ m)(货号:E-BC-R329);
建议用于分子质量小于 20kDa 的蛋白质。

赠送试剂:

| 货号 | 产品 | 规格 | 储存温度 | 保质期 |
|-----------|--|------------|------------------|-------|
| E-AB-1001 | Goat Anti-Mouse IgG(H+L) (peroxidase/HRP conjugated) | 20 μ L | -20 $^{\circ}$ C | 12 个月 |
| E-IR-R100 | Filter paper | 30 pieces | 室温 | 12 个月 |

自备试剂: 甲醇

使用说明

本试剂盒可供完成 5 块凝胶 (除 Marker, 45 个样) 对应的 Western Blot 实验。

注意事项

1. 本试剂盒仅用于科研, 不能应用于临床。
2. 收到该试剂盒后, 请按照说明书所提供的保存条件进行保存。
3. 请注意安全事项, 遵守实验室试剂操作规范操作。
4. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

蛋白样本的制备

1. 样本处理

1) **组织**: 取待测组织样本, 用预冷的 PBS, 洗去组织表面血液及内部杂物。称重剪碎, 建议按组织重量: RIPA 体积=1:5~1:10 的比例匀浆 (1 mL 的 RIPA 裂解液中加入 10 μ L PMSF 和 10 μ L 原硫酸钠)。匀浆后冰上震荡裂解 30 min。用移液器反复吹打样本 50 次左右, 确保 DNA 链被打断, 降低样本粘度。4 $^{\circ}$ C 下 12,000 rpm 离心 10 min, 取上清, 待测定蛋白浓度。

2) **细胞**: 收集待测细胞样本, 用预冷的 PBS 清洗细胞, 加入适量比例的 RIPA 裂解液混合物 (1 mL 的 RIPA 裂解液中加入 10 μ L PMSF 和 10 μ L 原硫酸钠) 进行冰上裂解 30 min。用移液器反复吹打样本 50 次左右, 确保 DNA 链被打断, 降低样本粘度。4 $^{\circ}$ C 下 12,000 rpm 离心 10 min, 取上清, 待测定蛋白浓度。

注: 裂解细胞或组织后, 若有非常粘滞的透明状 DNA 团块形成, 可采用超声处理, 降低样本粘度 (冰浴条件下进行)。

BCA 法测定蛋白浓度 (实验步骤请参见附录 1-试剂类)。

2. 样本变性

用 PBS 调整蛋白浓度, 按照蛋白样本: 5 \times SDS 上样缓冲液=4: 1 的比例加入 5 \times SDS 上样缓冲液 (cat# E-BC-R288), 沸水煮 10 min。12,000 rpm 离心 2 min, 收取上清。变性后的蛋白即可进行后续的 Western Blot 实验, 或保存于 -20 $^{\circ}$ C 或 -80 $^{\circ}$ C。

注: 建议待测样本总蛋白上样量为 50 μ g, 尽量保持各待测样本上样体积接近 10 μ L。

电泳

1. 根据靶蛋白的分子量大小，配制不同浓度的分离胶（见附录表 1）。每个泳道加入待测样本，并预留一个泳道加入 5 μL 的预染蛋白 Marker (cat# E-BC-R273)，以验证目的分子量大小及转膜程度。加入 1 \times 电泳缓冲液 (cat# E-BC-R331)，开始电泳。
2. 80v 恒压电泳，待溴酚蓝指示剂移动至浓缩胶与分离胶交界处成线状，改为恒压 120v，跑完全程，直至电泳结束。

转膜（湿转）

1. 根据靶蛋白的分子量选择不同孔径的 PVDF 膜。PVDF 膜先在甲醇中浸泡 1 min 使其活化，然后将 PVDF 膜浸泡于 1 \times 转膜缓冲液（含 20% 甲醇）中。同时将滤纸和纤维垫也浸泡在转膜缓冲液中待用。
2. 按照黑色板（负极）-纤维垫-滤纸-凝胶-PVDF 膜-滤纸-纤维垫-白色板（正极）依次放好，排出气泡，夹紧后放入湿转电转槽内。根据靶蛋白分子量调整转膜条件。请务必保证转膜过程在低温条件下进行。
注：此为湿转的参考步骤，如用其他转膜方法，请依具体情况进行调整。
3. 转膜完成后，小心取出 PVDF 膜，TBST 洗涤 1 min。

免疫印迹

1. 用含 5% 脱脂奶粉的 TBST 溶液浸泡 PVDF 膜，室温摇床封闭 1.5 h。
2. 用含 5% 脱脂奶粉的 TBST 溶液按照抗体说明书推荐的稀释比稀释，使 PVDF 膜浸泡于一抗孵育液中，4℃孵育过夜。
3. TBST 充分洗涤 PVDF 膜 3 次，15 min/次。
4. 用含 2%脱脂奶粉的 TBST 溶液按照说明书推荐的稀释比稀释相应的二抗（E-AB-1003 或 E-AB-1001），室温摇床孵育 1 h。
注：E-AB-1001 为过氧化物酶标记山羊抗小鼠 IgG，对应使用鼠源一抗；E-AB-1003 为过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG，对应使用兔源一抗。
5. TBST 充分洗涤 PVDF 膜 3 次，15 min/次。

显色曝光

1. 将 ECL 化学发光检测试剂盒（Cat#E-IR-R307）中的 A 液与 B 液按 1:1 比例混匀。
2. PVDF 膜从 TBST 洗液中取出后用滤纸吸干水分，均匀滴加 ECL 混合液于 PVDF 膜上，排出气泡，即可曝光。
3. 调节对比度，多次曝光获取最佳图片效果。

附录表

表 1 分离胶的配制

| 各种组分名称 | 不同分离胶体积所对应的各种组分的取样量 | | | | | | | |
|------------------|---------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 5 mL | 10 mL | 15 mL | 20 mL | 25 mL | 30 mL | 40 mL | 50 mL |
| 6% Gel | | | | | | | | |
| H ₂ O | 2.6 | 5.3 | 7.9 | 10.6 | 13.2 | 15.9 | 21.2 | 26.5 |
| 30% Acr-Bis | 1.0 | 2.0 | 3.0 | 4.0 | 5.0 | 6.0 | 8.0 | 10.0 |
| 分离胶缓冲液 | 1.35 | 2.6 | 3.95 | 5.2 | 6.55 | 7.8 | 10.4 | 13.0 |
| 10% 过硫酸铵 | 0.05 | 0.1 | 0.15 | 0.2 | 0.25 | 0.3 | 0.4 | 0.5 |
| TEMED | 0.004 | 0.008 | 0.012 | 0.016 | 0.02 | 0.024 | 0.032 | 0.04 |
| 8% Gel | | | | | | | | |
| H ₂ O | 2.3 | 4.6 | 6.9 | 9.3 | 11.5 | 13.9 | 18.5 | 23.2 |
| 30% Acr-Bis | 1.3 | 2.5 | 4.0 | 5.3 | 6.7 | 8.0 | 10.7 | 13.3 |
| 分离胶缓冲液 | 1.35 | 2.6 | 3.95 | 5.2 | 6.55 | 7.8 | 10.4 | 13.0 |
| 10% 过硫酸铵 | 0.05 | 0.1 | 0.15 | 0.2 | 0.25 | 0.3 | 0.4 | 0.5 |
| TEMED | 0.003 | 0.006 | 0.009 | 0.012 | 0.015 | 0.018 | 0.024 | 0.03 |
| 10% Gel | | | | | | | | |
| H ₂ O | 1.9 | 4.0 | 5.9 | 7.9 | 9.9 | 11.9 | 15.9 | 19.8 |
| 30% Acr-Bis | 1.7 | 3.3 | 5.0 | 6.7 | 8.3 | 10.0 | 13.3 | 16.7 |
| 分离胶缓冲液 | 1.35 | 2.6 | 3.95 | 5.2 | 6.55 | 7.8 | 10.4 | 13.0 |
| 10% 过硫酸铵 | 0.05 | 0.1 | 0.15 | 0.2 | 0.25 | 0.3 | 0.4 | 0.5 |
| TEMED | 0.002 | 0.004 | 0.006 | 0.008 | 0.01 | 0.012 | 0.016 | 0.02 |
| 12% Gel | | | | | | | | |
| H ₂ O | 1.6 | 3.3 | 4.9 | 6.6 | 8.2 | 9.9 | 15.9 | 16.5 |
| 30% Acr-Bis | 2.0 | 4.0 | 6.0 | 8.0 | 10.0 | 12.0 | 13.3 | 20.0 |
| 分离胶缓冲液 | 1.35 | 2.6 | 3.95 | 5.2 | 6.55 | 7.8 | 10.4 | 13.0 |
| 10% 过硫酸铵 | 0.05 | 0.1 | 0.15 | 0.2 | 0.25 | 0.3 | 0.4 | 0.5 |
| TEMED | 0.002 | 0.004 | 0.006 | 0.008 | 0.01 | 0.012 | 0.016 | 0.02 |
| 15% Gel | | | | | | | | |
| H ₂ O | 1.1 | 2.3 | 3.4 | 4.6 | 5.7 | 6.9 | 9.2 | 11.5 |
| 30% Acr-Bis | 2.5 | 5.0 | 7.5 | 10.0 | 12.5 | 15.0 | 20.0 | 25.0 |
| 分离胶缓冲液 | 1.35 | 2.6 | 3.95 | 5.2 | 6.55 | 7.8 | 10.4 | 13.0 |
| 10% 过硫酸铵 | 0.05 | 0.1 | 0.15 | 0.2 | 0.25 | 0.3 | 0.4 | 0.5 |
| TEMED | 0.002 | 0.004 | 0.006 | 0.008 | 0.01 | 0.012 | 0.016 | 0.02 |

表 2 浓缩胶的配制

| 各种组分名称 | 不同浓缩胶体积所对应的各种组分的取样量 | | | | | | | |
|------------------|---------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 1 mL | 2 mL | 3 mL | 4 mL | 5 mL | 6 mL | 8 mL | 10 mL |
| 5%浓缩胶 | | | | | | | | |
| H ₂ O | 0.68 | 1.4 | 2.1 | 2.7 | 3.4 | 4.1 | 5.5 | 6.8 |
| 30% Acr-Bis | 0.17 | 0.33 | 0.5 | 0.67 | 0.83 | 1.0 | 1.3 | 1.7 |
| 浓缩胶缓冲液 | 0.14 | 0.27 | 0.41 | 0.54 | 0.68 | 0.81 | 1.08 | 1.35 |
| 10% 过硫酸铵 | 0.01 | 0.02 | 0.03 | 0.04 | 0.05 | 0.06 | 0.08 | 0.1 |
| TEMED | 0.001 | 0.002 | 0.003 | 0.004 | 0.005 | 0.006 | 0.008 | 0.01 |

根据目标分子量大小，选择合适的凝胶浓度，参见表 3

表 3 蛋白分离线性范围对照表

| 分离胶浓度 | 线性分离范围 |
|-------|------------|
| 6% | 50~150 kDa |
| 8% | 30~90 kDa |
| 10% | 20~80 kDa |
| 12% | 12~60 kDa |
| 15% | 10~40 kDa |

附录 1-试剂类

E-BC-R327 RIPA 裂解液（强）

产品简介

RIPA 裂解液是一种传统的细胞组织快速裂解液，作为 Western Blot 试验中从动物组织或细胞中提取蛋白的首选裂解液。

产品成分

| 组分名称 | 包装规格 |
|--|-----------|
| RIPA Lysis Buffer (Strong) | 5 mL×1 瓶 |
| 100 mM PMSF | 50 μL×1 支 |
| 100 mM Na ₃ VO ₄ | 50 μL×1 支 |

RIPA 裂解液主要成分

50 mM Tris (pH=7.4), 150 mM NaCl, 1% TritonX-100, 1% 脱氧胆酸钠, 1 mM EDTA, 0.1% SDS, 10 mM 氟化钠, 1 mM 原钒酸钠, 1 mM PMSF。

保存条件

-20℃ 保存，保质期 12 个月

注意事项

1. 裂解样品的所有步骤都需在冰上或 4℃ 进行。
2. PMSF 和原钒酸钠在使用前添加,每 1 mL 裂解液中加入 10 μL PMSF 和 10 μL 原钒酸钠, 使终浓度为 1 mM。如发现 RIPA 有沉淀, 请放置室温或温水浴进行溶解。
3. RIPA 裂解液的裂解产物中可能会出现一团透明胶状物, 属正常现象。该透明胶状物为含有基因组 DNA 等的复合物。用移液器反复吹打样本 50 次左右, 可以有效降低样本样本粘度, 离心后取上清进行后续试验。
4. 用 RIPA 裂解的得到的蛋白样品, 因含有高浓度的去垢剂, 不能用 Bradford 法测定样品的蛋白浓度, 建议使用 BCA 法测定蛋白浓度。

E-BC-K318 BCA 蛋白浓度测定试剂盒

产品简介

蛋白质在碱性条件下将二价铜离子还原为一价铜离子，一价铜离子与 BCA 分子形成紫色络合物。此络合物可用 540-590 nm 波长检测，反应物的颜色和蛋白浓度在一定范围内具有线性关系。

产品组分

| 编号 | 组分名称 | 包装规格 |
|----------------|------------------------------|-----------------|
| 试剂一(Reagent 1) | BCA 溶液 (BCA Reagent) | 10 mL×1 瓶 |
| 试剂二(Reagent 2) | 铜盐溶液 (Copper Salt Solution) | 250 μ L×1 支 |
| 试剂三(Reagent 3) | 蛋白标准品 (Protein BSA Standard) | 0.563 mg×1 支 |

试剂准备

1. 563 μ g/mL 蛋白标准品的配制：

取 1 mL 的 0.01 M pH 7.4 的磷酸盐缓冲液加入试剂三中，溶解混匀即可。置于冰上待用，可分装-20 $^{\circ}$ C 保存 3 个月。

2. BCA 工作液的配制：

按试剂一：试剂二为 50：1 的体积比混匀，现用现配，配制完成的 BCA 工作液可置于 2-8 $^{\circ}$ C 保存 24 h。

操作步骤

- 空白孔：取 20 μ L 生理盐水或磷酸盐缓冲溶液，加入到对应的空白孔中；
标准孔：取 20 μ L 的标准品，加入到对应的标准孔中；
样本孔：取 20 μ L 的待测样本，加入到对应的样本孔中。
- 向步骤①中各孔垂直悬空加入 200 μ L 的 BCA 工作液。
- 酶标仪上，振荡混匀 20 s。
- 覆膜，37 $^{\circ}$ C 反应 30 min。
- 酶标仪 562 nm 测定 OD 值。

注：试剂加入酶标孔时，应触酶标板底加入；加样要慢，避免产生气泡。（气

泡会影响测定结果)

6.操作表如下

| | 空白孔 | 标准孔 | 测定孔 |
|---|-----|-----|-----|
| 生理盐水或磷酸盐缓冲溶液 (μL) | 20 | | |
| 563 μg/mL 标准品 (μL) | | 20 | |
| 待测样本 (μL) | | | 20 |
| 工作液 (μL) | 200 | 200 | 200 |
| 酶标仪振荡混匀 20s, 37°C反应 30 min,酶标仪 562 nm 处测定 OD 值 | | | |

$$7. \text{蛋白浓度} (\mu\text{g/mL}) = \frac{\text{测定 OD 值} - \text{空白 OD 值}}{\text{标准 OD 值} - \text{空白 OD 值}} * \text{标准品浓度} * \text{样本测试前稀释倍数}$$

保存条件

室温保存，保质期 12 个月。

注意事项

BCA 法测定蛋白浓度不受绝大部分样品中的化学物质的影响，可以兼容样品中高达 5% 的 SDS，5% 的 Triton X-100，5% 的 Tween 20,60,80。单受螯合剂和略高浓度的还原剂的影响，需确保 EDTA 低于 10mM，无 EGTA，二硫苏糖醇低于 1 mM，β-巯基乙醇低于 0.01%。如发现样品稀释液或裂解液本身就有较高背景，说明反应体系中有化学物质影响，不适用于本试剂盒。

E-BC-R273 预染蛋白 Marker (10~180 kDa)

产品简介

本产品由 10 种预染蛋白组成，分子量范围为 10~180 kDa。其中 10 kDa 为绿色条带，72 kDa 为橙色条带，其余均为蓝色条带。可用于直接观察蛋白质电泳状况及清晰地判断 Western Blot 的转膜效果。

产品组分

| 组分名称 | 包装规格 |
|---|-------------------------|
| Pre-stained Protein Marker (10~180 kDa) | 25 μ L \times 1 支 |

产品使用说明

1. 室温解冻本产品，请勿加热；
2. 涡旋混匀，确保溶液混合完全；
3. 取适量体积预染 Marker 加入到 SDS-PAGE 凝胶加样孔中。可取 5 μ L 体积 Marker 加入微凝胶（1 mm 厚 mini-gel）中，10 μ L 体积 Marker 加入全长凝胶中；

储存液成分

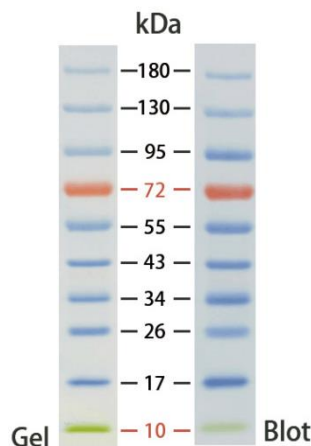
62.5 mM Tris \cdot H₃PO₄ (pH 7.5, 25 $^{\circ}$ C),
 1 mM EDTA, 2 % (w/v) SDS, 10 mM DTT,
 1 mM NaN₃, 33 % (v/v) 甘油。

保存条件

-20 $^{\circ}$ C 保存，保质期 12 个月。
 2~8 $^{\circ}$ C 可保存 3 月。

注意事项

切勿煮沸本产品。



E-BC-R337 脱脂奶粉

产品简介

脱脂奶粉在 Western Blot 中作为封闭剂来封闭膜上非特异性的抗体结合位点，避免产生非特异性背景。

产品组分

| 组分名称 | 包装规格 |
|------------------|----------|
| Skim Milk Powder | 15 g×1 瓶 |

产品使用说明

1. 配制 Western 封闭液：脱脂奶粉的浓度通常为 3~5%(w/v)，推荐使用 10× TBST (E-BC-R335)，按照 1:9 的比例用去离子水稀释至 1×的 TBST 工作液来进行配制。
2. 一抗和二抗也可用该封闭液稀释，一抗稀释建议使用 5%的脱脂奶粉封闭液；二抗稀释建议 2%的脱脂奶粉封闭液。（请根据具体用量进行配制）
3. 样品转膜完成后，洗涤膜 1~2 分钟。加入配置的 Western Blot 封闭液，封闭 60 分钟。
4. 洗涤蛋白膜 1~2 次，每次 1~2 分钟。随后进行一抗孵育等后续操作。

保存条件

室温保存，保质期 12 个月。

注意事项

1. 通常在室温封闭 60 分钟即可。如果对于一些背景非常高的抗体，可以尝试 4℃ 封闭过夜。
2. 脱脂奶粉成分比较复杂，可能含有微量的生物素，故不适合生物素-亲和素检测系统。
3. 尽量避免用于稀释 anti-goat 及 anti-sheep 的二抗

E-AB-1001 过氧化物酶标记山羊抗小鼠 IgG

Goat Anti-Mouse IgG(H+L)(peroxidase/HRP conjugated)

产品简介

经亲和纯化的羊抗鼠 IgG(重链和轻链)抗体, 标记上辣根过氧化物酶(HRP), 可进行化学发光检测。

产品组分

| 组分名称 | 包装规格 |
|---|-------------------------|
| Goat Anti-Mouse IgG(H+L)(peroxidase/HRP conjugated) | 20 μ L \times 1 支 |

产品使用说明

Western Blotting: 1:5000-50000 (Enhanced chemiluminescent detection)

Western Blotting: 1:1000-5000 (DAB detection)

Direct ELISA: 1:5000-30000(TMB detection)

储存液成分

0.01M PBS with 50% glycerol, pH7.4

保存条件

-20 $^{\circ}$ C 保存, 保质期 12 个月。

E-AB-1003 过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG

Goat Anti-Rabbit IgG (H+L)(peroxidase/HRP conjugated)

产品简介

经亲和纯化的羊抗兔 IgG(重链和轻链)抗体, 标记上辣根过氧化物酶(HRP), 可进行化学发光检测。

产品组分

| 组分名称 | 包装规格 |
|---|-------------------------|
| Goat Anti- Rabbit IgG(H+L)(peroxidase/HRP conjugated) | 20 μ L \times 1 支 |

产品使用说明

Western Blotting: 1:5000-50000 (Enhanced chemiluminescent detection)

Western Blotting: 1:1000-5000(DAB detection)

Direct ELISA: 1:5000-30000(TMB detection)

储存液成分

0.01M PBS with 50% glycerol, pH7.4

保存条件

-20 $^{\circ}$ C 保存, 保质期 12 个月。

E-IR-R307 化学发光 (ECL) 底物液

产品简介

化学发光 (ECL) 底物液是一款辣根过氧化物酶 (HRP) 底物, 可用于检测辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的蛋白或核酸, 用于蛋白质印迹或 ELISA 等分析蛋白含量, 可兼容胶片和数字显影系统。

产品组分

| 组分名称 | 包装规格 |
|-----------------|-----------|
| ECL Substrate A | 15 mL×1 瓶 |
| ECL Substrate B | 15 mL×1 瓶 |

产品使用说明

1. 按照免疫印记实验要求封闭印记膜, 孵育一抗和相应的二抗;
2. 用 TBST 洗膜 3 次, 每次 5 min;
3. 根据需要吸取适量底物 A 液和底物 B 液 1: 1 等量混合;
4. 取适量混合后的底物液加到膜上;
5. 根据发光强度的强弱调整曝光时间。

保存条件

2~8°C 避光保存, 保质期 12 个月。

注意事项

1. 造成曝光背景高的原因可能是膜未洗干净、二抗或一抗浓度过高、封闭液不合适等等, 可根据实际情况做适当调整。
2. A 液和 B 液在吸取过程中需更换吸头, 否则会导致产品失效。
3. 如无信号, 可能是目的蛋白表达弱, 可适当延长曝光时间。
4. 如荧光迅速淬灭, 可能是目的条带荧光信号过强, 导致 HRP 快速消耗 ECL 底物, 建议降低二抗浓度。
5. NaN_3 或金属螯合剂会抑制 HRP 活性, 溶液中应避免使用。
6. ECL 工作液需现配现用。

附录 2-缓冲液类

E-BC-R187 PBS 缓冲液

产品简介

PBS 缓冲液即磷酸盐缓冲液，可提供相对稳定的离子环境和 pH 缓冲能力，是生物化学最为常用的缓冲液。在 WB 样本制备时，用预冷的 PBS 清洗组织表面及内部杂物或细胞培养基等成分，防止内源性 IgG 或培养基等产生干扰。

产品组分

| 组分名称 | 包装规格 |
|-------------------------|------------|
| PBS Buffer, pH7.4 (10×) | 100 mL×1 瓶 |

产品使用说明

本产品为 10× 浓缩液，临用前用去离子水稀释成 1× 工作液。

保存条件

室温保存，保质期 12 个月。

1×PBS 缓冲液成分

136.9 mM NaCl, 2.68 mM KCl, 10 mM Na₂HPO₄·12H₂O, 2 mM KH₂PO₄, pH 7.4。

注意事项

PBS 在低温存放时可能会出现沉淀，若发生沉淀可置于 37°C 水浴中，待溶解完全后再行稀释使用。

E-BC-R288 5 × SDS 上样缓冲液

产品简介

本制品是蛋白质样品进行 SDS-PAGE 电泳用的上样 Buffer。制品中含有的 SDS 可与蛋白质结合成 SDS-蛋白质复合物，使其带上大量的负电荷，消除蛋白质本身的电荷差异；溴酚蓝用作电泳时的指示剂，以确定电泳的进行情况。

产品组分

| 组分名称 | 包装规格 |
|-----------------------|----------|
| 5× SDS Loading Buffer | 1 mL×2 支 |

产品使用说明

1. 室温或水浴溶解 5× SDS 上样缓冲液后，室温放置；
2. 按照每 20 μL 蛋白质样品，加入 5 μL 的 5× SDS 上样缓冲液，混合均匀；
3. 95~100°C 加热 10 min，充分变性蛋白质；
4. 12,000 rpm 离心 2 min，收取上清；
5. 取 10~20 μL 上清加至 SDS-PAGE 凝胶加样孔中。

5×储存液成分

0.25 M Tris·HCl (pH6.8)，0.5 M DTT，10% SDS，0.5% 溴酚蓝，50% 甘油。

保存条件

-20°C 保存，保质期 12 个月。

注意事项

1. 本制品-20°C 保存时，可能会出现 SDS 沉淀，请于温水中溶解后使用。建议按实际使用情况适当分装保存。
2. 样品煮沸后，若仍有比较粘稠或粘稠状的半透明物体，可适当延长煮沸时间或加入 1×SDS 上样缓冲液后再次煮沸，使结合在基因组 DNA 上的蛋白质充分释放，并使基因组 DNA 部分断裂，减少样本粘稠度的产生。
3. 本制品含有 DTT，具有轻微刺激性气味，有一定的毒性。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

E-BC-R331 电泳缓冲液 (10×)

产品简介

Tris-Glycine SDS 电泳缓冲液用于蛋白质变性的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 中。

产品组分

| 组分名称 | 包装规格 |
|------------------------------|------------|
| Electrophoresis Buffer (10×) | 125 mL×2 瓶 |

产品使用说明

本产品为 10× 浓缩液，临用前用去离子水稀释成 1×工作液。

保存条件

室温保存，保质期 12 个月。

1×电泳液成分

25 mM Tris-base, 192 mM 甘氨酸, 0.1% SDS, pH 8.3。

注意事项

本产品为高倍浓缩液，温度较低时可能会有结晶析出，可进行加热助溶，待溶解完全后再行稀释使用。

E-BC-R333 转膜缓冲液 (10×)

产品简介

Tris-Glycine 转膜缓冲液用于蛋白质印迹试验的湿转及半干转试验中。可将蛋白从凝胶中转移至 PVDF 膜或 NC 膜上。

本产品提供的是 10×浓缩液（无甲醇），便于运输。

产品组分

| 组分名称 | 包装规格 |
|----------------------------|------------|
| Transmembrane Buffer (10×) | 125 mL×2 瓶 |

产品使用说明

本产品为 10×浓缩液，使用前需配制成 1×工作液。如：取 100 mL 转膜缓冲液（10×）、200 mL 甲醇（自备），加入去离子水，定容至 1 L，混匀即可使用。

通常，建议使用 20% 甲醇，也可根据具体情况进行调整。对于高分子量的蛋白转移不完全时，可通过调整甲醇的浓度进行纠正。对于分子量大于 200 kDa 的蛋白，可将甲醇浓度从 20% 降低至 5%，转膜时间可适当增至 3 h。

保存条件

2~8°C 保存，保质期 12 个月。

1×转膜液成分

25 mM Tris-base, 192 mM 甘氨酸, 20% (V/V) 甲醇, pH 8.3。

注意事项

1. 本产品为 10×浓缩液，一旦添加甲醇配制成 1×工作液，请于一周内使用。
2. 本产品不含 SDS。对于分子量大于 120 kDa 或疏水性较强的蛋白，可添加 (0.025~0.1%) 的 SDS，防止蛋白质在凝胶里聚集沉淀。
3. 本产品为高倍浓缩液，温度较低时可能会有结晶析出，可进行加热助溶，待溶解完全后再行稀释使用。

E-BC-R335 TBST 缓冲液 (10×)

产品简介

TBST 缓冲液用于 Western Blot 中洗去膜上的非特异性结合，含有 0.1% 的 Tween 20。Tween 20 为非离子去污剂，增加了缓冲液的洗脱能力，降低抗体的非特异性结合。

产品组分

| 组分名称 | 包装规格 |
|--------------------------|------------|
| TBST Buffer, pH7.4 (10×) | 125 mL×2 瓶 |

产品使用说明

本产品为 10×浓缩液，使用前需配制成 1× 工作液。如：取 100 mL TBST 缓冲液 (10×)，加入去离子水，定容至 1 L 即可。

保存条件

2~8°C 保存，保质期 12 个月。

1×TBST 成分

145.4 mM NaCl, 10 mM Tris-base, 0.1% (V/V) Tween 20, pH 7.4。

注意事项

若产品出现结晶，请于 37°C 进行水浴助溶，待溶解完全后再行稀释使用。

附录 3-耗材类

E-BC-R266 PVDF Membrane (0.45 μm , 8.5 cm \times 6 cm)

产品简介

孔径为 0.45 μm 的 PVDF 膜可用于大多数的免疫印迹，建议用于分子质量大于 20 kDa 的蛋白质。

PVDF 膜结合能力：Insulin: 85 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

BSA: 131 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

Goat IgG: 294 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

产品组分

| 组分名称 | 包装规格 |
|---|------------------------|
| PVDF Membrane (0.45 μm , 8.5 cm \times 6 cm) | 5 pieces \times 1 包 |
| Filter paper | 30 pieces \times 1 包 |

产品使用说明

1. PVDF 膜先用甲醇浸泡 1 min，使其活化。
2. 用去离子水浸泡活化后的 PVDF 膜，去除膜上的甲醇。
3. 和印迹滤纸一起，浸泡于转膜缓冲液中 2~3 min。
4. 按照黑板（负极）- 纤维垫 - 滤纸 - 凝胶 - PVDF 膜 - 滤纸 - 纤维垫 - 白板（正极）依次放好，排出气泡，夹紧后放入湿转电转槽内。
5. 依次进行后续试验。

保存条件

室温保存，保质期 12 个月。

注意事项

1. 请佩戴手套处理，勿使 PVDF 膜受到污染。
2. 试验过程中请勿使 PVDF 膜干燥。

注：此 PVDF 膜为 E-IR-R304A 试剂盒组份

E-BC-R329 PVDF Membrane (0.22 μm , 8.5 cm \times 6 cm)

产品简介

孔径为 0.22 μm 的 Immobilon-P 膜可用于大多数的免疫印迹，建议用于分子质量小于 20 kDa 的蛋白质。

PVDF 膜结合能力：Insulin: 262 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

BSA: 340 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

Goat IgG: 448 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

产品组分

| 组分名称 | 包装规格 |
|---|------------------------|
| PVDF Membrane (0.22 μm , 8.5 cm \times 6 cm) | 5 pieces \times 1 包 |
| Filter paper | 30 pieces \times 1 包 |

产品使用说明

1. PVDF 膜先用甲醇浸泡 1 min，使其活化。
2. 用去离子水浸泡活化后的 PVDF 膜，去除膜上的甲醇。
3. 和印迹滤纸一起，浸泡于转膜缓冲液中 2~3 min。
4. 按照黑色板（负极）- 纤维垫 - 滤纸 - 凝胶 - PVDF 膜 - 滤纸 - 纤维垫 - 白色板（正极）依次放好，排出气泡，夹紧后放入湿转电转槽内。
5. 依次进行后续试验。

保存条件

室温保存，保质期 12 个月。

注意事项

1. 请佩戴手套处理，勿使 PVDF 膜受到污染。
2. 试验过程中请勿使 PVDF 膜干燥。

注：此 PVDF 膜为 E-IR-R304B 试剂盒组份