

产品介绍

本产品专门用于Western blot实验中膜的封闭和抗体的稀释，本品含有特殊有机化合物成份，可显著缩短实验反应时间，从而提高实验效率。

本产品含有不同分子量范围的惰性蛋白，可有效降低背景，并且保护抗体的活性，使用本产品稀释好的抗体工作液，通常可以在4℃存放3个月以上。

本产品含有病理级防腐剂，可以兼容HRP，因此本产品即可以稀释一抗（包括磷酸化一抗），也可以稀释HRP标记的一抗或二抗。本产品还可以稀释荧光标记的一抗和二抗。

不适用的情形：本产品含有BSA，不能用于稀释抗BSA一抗。本产品为半透明胶体，如有不溶成团或成块聚集物请勿使用。

包装规格

100 mL/500 mL

保存条件

2-8度保存，有效期12个月。

使用方法

1、电泳和转移，按常规方法进行。

2、封闭（可选）。转膜结束后，把印迹膜放置于反应盒中，用洗涤液（TBST或PBST）涮洗3-5秒后弃去洗涤液，加入适量（完全淹没膜）的本产品置于水平摇床上缓慢摇动，室温或37℃封闭5分钟即可。

注意：如后续步骤稀释液仍使用本产品，则可省略封闭步骤（即涮洗后弃去洗涤液，直接加入稀释好的一抗）。如后续步骤稀释液用其他稀释液，或一抗反应时间计划延长至25分钟以上时，则本步骤不建议省略。使用本产品封闭5分钟即可达到理想效果，延长通常不会有太大区别。如需以本步骤作为实验停点，可以将此步骤在4℃静置进行（30分钟至24小时）。

3、一抗孵育。

3.1 提前用本产品稀释好一抗。封闭结束后，弃去封闭液，加入适量（完全淹没膜）的一抗。如有多余的一抗工作液，可放回4℃存放。

注意：封闭结束后，可以不洗涤直接加入一抗。如需洗涤，可用常规洗涤液简单洗涤一次。

3.2 将反应盒置于水平摇床，先快速摇匀一抗，再缓慢摇动室温或37℃孵育10-25分钟，部分高亲和力和抗体可以缩短至5分钟以内。

3.3 一抗孵育结束推荐使用PBST或TBST缓冲液洗涤，将反应盒置于水平摇床，先加入适量洗涤液快速涮洗两次（每次3-5秒），再用洗涤液洗涤3次，每次1分钟。

4、二抗孵育（如果一抗为HRP直标一抗，则无需此步，直接进行第5步）。

4.1 提前用本产品稀释好二抗。一抗洗涤完后，加入适量（完全淹没膜）的二抗。如有多余的二抗，可放回4℃存放。

4.2 将反应盒置于水平摇床，先快速摇匀二抗，再缓慢摇动室温或37℃孵育8-15分钟。

4.3 二抗孵育结束推荐使用PBST或TBST缓冲液洗涤，将反应盒置于水平摇床，先加入适量洗涤液快速涮洗两次（每次3-5秒），再用洗涤液洗涤3次，每次1分钟。

5、洗涤结束后即可加底物进行化学发光成像仪检测或暗室显影操作成像。

注意

本品使用前请置于室温25℃或37℃恒温箱平衡温度以确保使用效果。孵育过程室温25℃或37℃对实验结果无明显影响，但室温低于25℃时推荐辅助加热恒温孵育。

提示

1、若首次使用本产品，可能需要优化抗体稀释比。建议先固定二抗浓度（一般0.05-0.1 ug/mL），固定一抗和二抗反应时间后再优化测试一抗浓度。

2、如有个别结果不理想情况可适当调整一抗、二抗浓度或洗涤的时间，适当优化成像或者曝光时间。

3、使用本产品稀释好的一抗或二抗，通常可以在4℃存放3个月以上。但不同一抗或二抗存放时间长度有所不同，具体稳定期请自行判断。

4、本产品含有防腐剂ProClin 300，请穿实验服且戴一次性手套操作。

5、本产品仅限于专业人员实验室科学研究使用，不得用于医疗、食品或药品。

FAQ

1. 使用此产品时，全程稀释液都需要使用此产品吗？

答：不用。使用本产品的步骤按本产品推荐的条件进行即可，未使用本产品的步骤按常规方法操作。

2. 使用此产品，对一抗或二抗厂家有要求吗？

答：没有要求。

3. 使用本产品时，有哪些步骤可以设置停点，应如何设置？

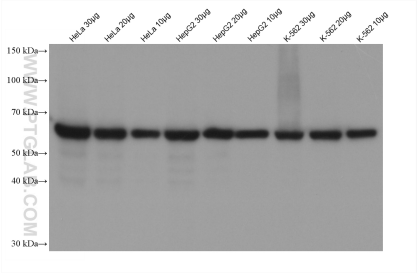
答：使用本产品可选的停点有：

（1）封闭（可选）。转膜后直接将膜泡在PBST/TBST洗涤液中或泡在本产品中4度静置作为停点（30分钟至24小时）。恢复实验时，移至室温平衡温度后进行后续实验。

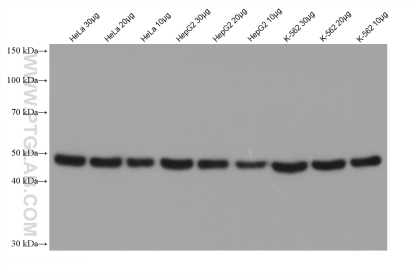
（2）一抗后。一抗反应结束后，直接将膜泡在PBST/TBST洗涤液中，室温静置作为停点（30分钟至4小时为宜）。恢复实验时，洗涤液洗涤3次，每次1分钟。洗涤后即可加二抗。

（3）二抗后。二抗反应结束后，直接将膜泡在PBST/TBST洗涤液中，室温静置作为停点（30分钟至4小时为宜）。恢复实验时，洗涤液洗涤3次，每次1分钟。洗涤后即可加底物成像。

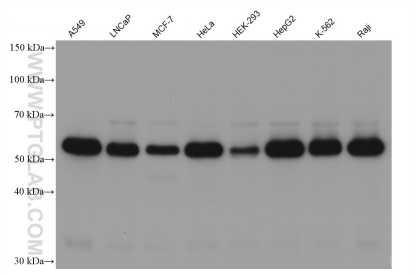
Validation Data



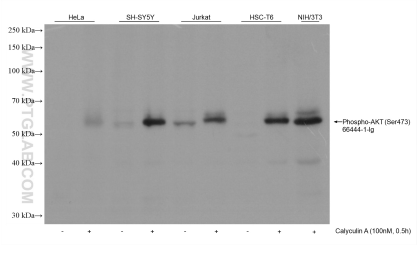
不同样本以不同上样量跑胶转膜，未封闭，一抗 15282-1-AP (HSPD1兔多克隆抗体) 用PR20039以1:50000稀释，室温反应18分钟，二抗Proteintech RGAR001，用PR20039以1: 5000 稀释，室温反应 8 分钟。



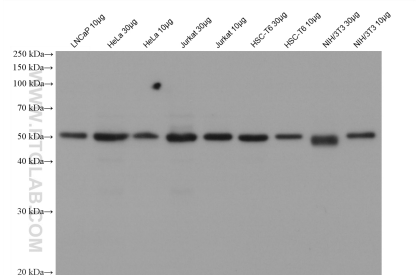
不同样本以不同上样量跑胶转膜，未封闭，一抗 80713-1-RR (Beta Tubulin兔重组抗体) 用PR20039以1:10000稀释，室温反应18分钟，二抗Proteintech RGAR001，用PR20039以1: 5000 稀释，室温反应 8 分钟。



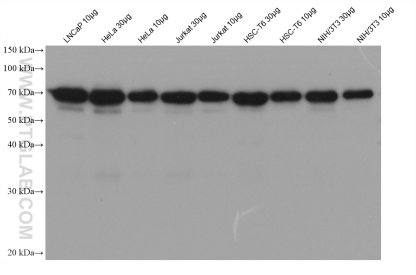
不同样本以每孔30ug上样量跑胶转膜，未封闭，一抗 66184-1-Ig (p62鼠单克隆抗体) 用PR20039以1:20000稀释，室温反应15分钟，二抗Proteintech RGAM001，用PR20039以1: 5000 稀释，室温反应10 分钟。



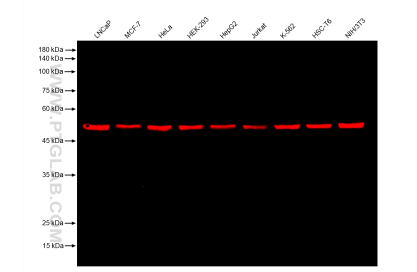
不同样本以每孔30ug上样量跑胶转膜，未封闭，一抗 66444-1-Ig (Phospho-AKT (Ser473)鼠单克隆抗体) 用PR20039以1: 10000稀释，室温反应15分钟，二抗Proteintech RGAM001，用PR20039以1: 5000 稀释，室温反应10分钟。



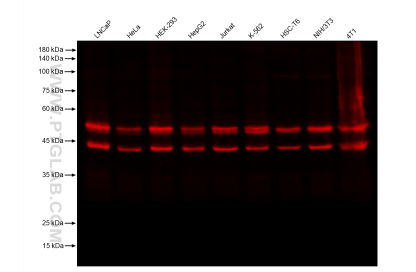
不同样本以不同上样量跑胶转膜，未封闭，一抗 66031-1-Ig (Alpha Tubulin鼠单克隆抗体) 用PR20039以1: 20000稀释，室温反应3分钟，二抗Proteintech RGAM001，用PR20039以1: 5000 稀释，室温反应3分钟。



不同样本以不同上样量跑胶转膜，未封闭，一抗HRP-66095 (HRP标记的Lamin B1鼠单克隆抗体) 用PR20039以1: 5000稀释，室温反应3分钟，未加二抗。



不同样本以每孔30ug上样量跑胶转膜，未封闭，一抗 80713-1-RR (Beta Tubulin兔重组抗体) 用PR20039以1: 20000稀释，室温反应15分钟，二抗Proteintech RGAR006，用PR20039以1: 10000 稀释，室温反应10分钟。



不同样本以每孔30ug上样量跑胶转膜，未封闭，一抗66210-1-Ig (JNK鼠单克隆抗体) 用PR20039以1: 10000稀释，室温反应15分钟，二抗Proteintech RGAM006，用PR20039以1: 10000 稀释，室温反应 10分钟。