

## Western Antibody Dilution Buffer

货号: RK05743

规格: 100ml/250ml

### ◆ 产品描述

Western 抗体稀释液可以用于 Western 时转移了蛋白样品的 PVDF 膜或 NC 膜的封闭及普通抗体和磷酸化抗体的稀释。封闭后, 可以减小后续的一抗或二抗和膜的非特异性结合, 降低背景, 增强信噪比。

### ◆ 产品组成

组成	100ml	250ml
Bovine Serum Albumin(BSA)	3g	7.5g
1× TBS 缓冲液粉剂 (ml)	100ml	250ml

### ◆ 保存条件

室温保存。

### ◆ 操作说明

(1) 取一包装 100ml (250ml) 1× TBS 缓冲液粉剂, 倒入到一洁净的烧杯中, 加入蒸馏水到约 50ml (150ml), 再加入 100ul (250 ul) 吐温-20, 溶解。用 HCL 调节 PH 至 7.6, 混匀后在量筒中用去离子水定容到 100ml (250ml)。混匀后即可使用。

(2) 取一洁净带有刻度的烧杯, 称取 3g (7.5g) BSA 于烧杯中, 再用上述配置好的 TBST 溶液定容到 100ml (250ml), 溶解制备成 3% BSA 的工作液。未使用完的工作液尽量 3 天内使用。

(3) 完成转膜后, 用 Western 洗涤液洗涤蛋白膜 1-2 分钟。加入上述 3% BSA 工作液, 封闭 60 分钟。

(4) 封闭结束前 20min, 可使用上述 3% BSA 工作液进行一抗稀释。以一抗 1:1000 稀释比为例, 即每 1ml 的 3% BSA 工作液中需加入 1ul 一抗。混匀后即可使用。

### ◆ 封闭剂的选择

- 1、脱脂奶粉不能与生物素化或伴刀豆蛋白标记的抗体一起使用, 因为脱脂奶粉含有糖蛋白和生物素; 建议使用 BSA。
- 2、检测磷酸化抗体时, 避免酪蛋白/脱脂奶粉作为封闭剂, 可选择 BSA 作为封闭液分析磷酸化蛋白。脱脂奶粉含磷酸酶, 用磷酸化特异性抗体分析磷酸化蛋白受到影响, 因为磷酸酶与膜上的磷酸化蛋白接触可使之去磷酸化; 也不适用于碱性磷酸酶(AP)检测系统。
- 3、如果用辣根过氧化物酶 (HRP) 检测系统, 封闭液不应加叠氮钠 (NaN<sub>3</sub>), 因为叠氮钠对辣根过氧化物酶 (HRP) 有灭活作用。

4、如果用二抗抗体是碱性磷酸酶(AP)标记的检测系统,可使用酪蛋白封闭,同时须选择 TBS 缓冲溶液,不可使用 PBS 缓冲溶液,因为 PBS 缓冲溶液干扰碱性磷酸酶。

◆ 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 4°C 封闭过夜。

2、通常在一抗孵育室温 2h 或 4°C 过夜。

3、本产品仅限于专业人员的科学研究用,不得用于临床诊断或治疗,不得用于食品或药品,不得存放于普通住宅内。

4、为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。