

Western Blocking Buffer

货号: RM00015

规格: 100ml/250ml

◆ 产品描述

Western 封闭液可以用于 Western 时转移了蛋白样品的 PVDF 膜或 NC 膜的封闭,也可用于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

每 1ml TBST 溶液中含有 0.03g BSA。

◆ 保存条件

4°C 保存,至少 3 天有效。

◆ 操作说明

- (1) 完成转膜后,用 Western 洗涤液洗涤蛋白膜 1~2 分钟。加入本产品 (5~10ml),封闭 60 分钟。
- (2) 封闭结束前 20min,可使用本产品进行一抗稀释。以一抗 1:1000 稀释比为例,即每 1ml 的工作液中需加入 1 μ l 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_3),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。