

Western Blot全套试剂选择指南

Western Blot 是分子生物学、生物化学和免疫遗传学中最常用的一种实验方法，WB 的原理很简单——将电泳分离的细胞或组织蛋白转移到 PVDF/NC 膜上，用特定抗体结合蛋白抗原，再结合标记的二抗，以化学发光的方式可视化地将蛋白表达情况呈现在人们面前。

WB 实验大致分为蛋白提取、蛋白电泳、转膜、封闭、一抗孵育、二抗孵育、显影 7 个步骤，整个实验需要用到一抗、二抗和多种常用试剂，要想得到完美的 WB 结果，必须处理好每个步骤的细节，同时也要确保所用试剂的品质。

WB 的结果不止取决于所选抗体，与所用的缓冲液、封闭液等常用试剂都息息相关。工欲善其事，必先利其器。

Bioss 作为一家抗体及相关产品的专业生产商和供应商，共拥有一抗产品约 20000+ 种，涉及 14000+ 种靶标蛋白，包括标签抗体、磷酸化抗体、内参抗体、甲基化抗体、乙酰化抗体、药物与化合物抗体和植物抗体等多种类别，部分精品抗体经过严格的 KO(Knock Out)验证；二抗产品约 1000+ 种，可提供 20 多种靶标物种现货抗体；常用试剂约 2000 种，包含常见生物学实验所涉及的大部分试剂。本册为大家推荐 Western Blot 实验 7 个步骤所需的全套试剂。

Western Blot全套试剂优势

- 全 -

品种完善，涵盖 WB 相关的全线产品，无须担心产品兼容问题，一次性购买齐全。

- 快 -

产品使用方便快捷，缓冲液粉剂即冲即用，超敏显色液灵敏度高显色快，节约时间成本。

- 省 -

价格便宜质量好，性价比高，节约金钱成本。

- 无忧 -

售后完善，若产品质量出现问题，轻松换货无烦恼。



蛋白免疫印迹(WB)实验流程及配套试剂



Western Blot配套试剂表

分类	编号	名称	规格
WB 试剂盒	WB001	WB kit (抗兔一抗)	36T
	WB002	WB kit (抗小鼠一抗)	36T
蛋白酶抑制剂	C05-01002	PMSF (100mM)	1ml/10ml/10×1ml
	D50393	胃蛋白酶抑制剂	5mg
	Y-0067	亮抑酶肽	1mg/5mg/10mg
	C51003	磷酸酶抑制剂混合物	1ml A + 1ml B
	D10359	胰蛋白酶抑制剂	100mg
	D50381	AESF (丝氨酸蛋白酶抑制剂)	10mg/100mg/1ml (10mM/DMSO)
	PIC004	蛋白酶抑制剂混合物 (细菌抽提用, 100×)	1ml
	PIC006	蛋白酶抑制剂混合物 (His-Tag 蛋白纯化用, 100×)	1ml
蛋白提取	PIC008	蛋白酶抑制剂混合物	1ml/10×1ml
	C0951	免疫沉淀试剂盒 - 免疫磁珠蛋白 A/G	20T/100T
	C5025	细胞裂解液	100ml/500ml
	C5026	NP-40 裂解液	100ml
	C5027	RIPA 裂解液 (弱)	100ml
	C5028	RIPA 裂解液 (中)	100ml
	C5029	RIPA 裂解液 (强)	100ml
	C5030	SDS 裂解液	100ml
	C5031	RIPA 裂解液 (强中弱套装)	3×50ml
	C-0013	Western 及 IP 细胞裂解液	30ml/60ml/100ml
	C05-01001	RIPA 组织及细胞蛋白裂解液	30ml/50ml/100ml
	C5037	植物线粒体膜蛋白提取试剂盒	50T/100T
	蛋白定量	C05-02001	BCA 蛋白定量试剂盒
C05-02002		双缩脲法蛋白含量检测试剂盒	50T/100T
C05-02003		Bradford 蛋白浓度测定试剂盒	250T/1000T
C5075		宽范围蛋白定量试剂盒	100T/500T
C5076		Lowry 法蛋白浓度测定试剂盒 (1000T)	1000 微孔
凝胶配制	C-0047	SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒	40-60 块
	C05-03004	30% Acr-Bis (29:1)	100ml/500ml
	C05-03005	1.5M Tris-HCl (pH8.8)	100ml/500ml
	C05-03006	1M Tris-HCl (pH6.8)	100ml/500ml
	C05-03007	10% SDS 溶液	100ml
	C05-03008	TEMED	1ml/10ml/100ml
	C05-03009	10% AP	1ml/1ml×8/20×1ml
	C5005	SDS-PAGE 浓缩胶缓冲液 (4×)	100ml/500ml
蛋白 Marker	PM1180	BiosPM™ 彩虹广谱蛋白 Marker(10-180KD)	100ul/250ul/10×250ul
	PM1245	BiosPM™ 彩虹广谱蛋白 Marker(10-245KD)	100ul/250ul/10×250ul
	PM1310	BiosPM™ 彩虹广谱蛋白 Marker(10-310KD)	100ul/250ul/10×250ul
	C05-09002	彩色预染蛋白 Marker(10-180 kDa)	100ul/250ul/10×250ul
	C05-03003	预染广谱蛋白 Marker(11-245kDa)	250ul
	C05-09004	彩色预染宽范围蛋白 Marker(5-245 kDa)	50ul/100ul
	C05-09006	彩色预染宽范围蛋白 Marker(10-270 kDa)	100ul/250ul
	PME001	非预染可曝光蛋白 Marker	100ul/250ul/10×250ul
上样缓冲液	C05-03001	5× 蛋白上样缓冲液 (含巯基还原剂)	5ml/10ml
	C05-03002	5× 蛋白上样缓冲液 (非变性)	5ml
	C05-03013	2× 蛋白上样缓冲液 (含 DTT)	5ml/10ml
	C05-03014	2× 蛋白上样缓冲液 (非变性)	5ml
	C05-03015	4× 蛋白上样缓冲液 (含巯基还原剂)	5ml
	C05-03016	4× 蛋白上样缓冲液 (非变性)	5ml
	C05-03017	荧光蛋白上样缓冲液	100μl/1ml
	C05-03018	荧光蛋白上样缓冲液 (非还原)	100μl/1ml
电泳指示剂	C5012	溴酚蓝水溶液 (1%)	10ml
电泳缓冲液	C05-03010	Tris- 甘氨酸蛋白电泳缓冲液 (1×, 粉剂)	1L
	C05-03011	Tris- 甘氨酸蛋白电泳缓冲液 (10×, 粉剂)	1L
	C05-03020	Hepes WB 电泳缓冲液, 25× (干粉)	200ml
	C1057	1×MES 速溶颗粒	1L×3/1L×10/1L×50
	C1058	1×MOPS 速溶颗粒	1L×3/1L×10/1L×50

分类	编号	名称	规格	
凝胶染色	C05-04001	考马斯亮蓝快速染色液	250ml/500ml	
	C5036	超敏蛋白快速染色液	100ml/100ml×5	
NC 膜	C55001	硝酸纤维素膜, 0.45μm (进口分装, Millipore, 6.3×8.3cm)	20 张 /100 张	
	C55002	硝酸纤维素膜, 0.45μm (进口分装, Millipore, 12.6×16.6cm)	5 张	
	C55003	硝酸纤维素膜, 0.22μm (进口分装, Pall, 6.3×8.3cm)	20 张 /100 张	
	C55004	硝酸纤维素膜, 0.22μm (进口分装, Pall, 12.6×16.6cm)	5 张	
	C55011	硝酸纤维素膜, 0.45μm (进口原装, Millipore, 33cm×3m/卷)	1 卷	
	C55012	硝酸纤维素膜, 0.22μm (进口原装, Pall, 30cm×3m/卷)	1 卷	
	C55005	PVDF 膜 0.45μm (进口分装, Millipore, 6.6×8.5cm)	20 张 /100 张	
	C55006	PVDF 膜 0.45μm (进口分装, Millipore, 8.5×13.2cm)	10 张	
	C55007	PVDF 膜 0.45μm (进口原装, Millipore, 26.5cm×3.75m/卷)	1 卷	
	C55008	PVDF 膜 0.2μm (进口分装, Millipore, 6.6×8.5cm)	20 张 /100 张	
PVDF 膜	C55009	PVDF 膜 0.2μm (进口分装, Millipore, 8.5×13.2cm)	10 张	
	C55010	PVDF 膜 0.2μm (进口原装, Millipore, 26.5cm×3.75m/卷)	1 卷	
	转膜缓冲液	C05-05003	1× 电泳转移缓冲液 (转膜液) 粉剂	1L/10×1L/100×1L
		C05-05004	10× 电泳转移缓冲液 (转膜液) 粉剂	1L/10×1L/100×1L
		C-0074	1× 电泳转移缓冲液 (转膜液) 粉剂	1L
		C5058	10× 转膜缓冲液	500ml
	转膜效率检测	C05-04002	10× 丽春红染色液	10ml/50ml/100ml
		C-0072	丽春红 S	5g/10g
	封闭	C05-06001	WB 封闭液 (脱脂奶粉)	60ml/100ml
		C05-06002	WB 封闭液 (5% BSA)	60ml/100ml/500ml
C5059		封闭用脱脂奶粉	50g/100g	
C1066		快速封闭液速溶颗粒 (TBS-T)	100ml×3/100ml×10/100ml×50	
洗涤液	C1060	1×TBS-T 速溶颗粒	1L×5/1L×10/1L×50	
	C5042	1×TBS 缓冲液 (pH7.4)	500ml	
	C5047	20×TBS 缓冲液 pH7.4	500ml	
	C5049	1×TBST 缓冲液 pH7.4	500ml	
	C5051	20×TBST 缓冲液 pH7.4	500ml	
	C05-07003	Western 洗涤液 (10×)	60ml/500ml	
抗体稀释液	C05-07001	通用型 WB 抗体稀释液	60ml/100ml	
	C01-02001	抗体保存液	30ml/100ml	
	C01-04001	抗体稀释液 (普通型)	30ml/100ml	
	C01-04002	HRP 标记抗体稀释液	30ml/60ml/100ml	
	C01-04003	AP 标记抗体稀释液	30ml/50ml/100ml	
	C01-04004	荧光抗体稀释液	30ml/100ml	
	C04-01005	酶标抗体稀释液	30ml/50ml/100ml	
	C05-03041	膜再生液	100ml/500ml	
显影	C-0003	3,3'-二氨基联苯胺四盐酸盐水合物 (DAB) (进口)	1g/5g	
	D10294	3,3'-二氨基联苯胺四盐酸盐水合物 (DAB)	1g	
	S0339	AEC 显色试剂盒 (20×)	1ml/10ml	
	C-0010	DAB 显色试剂盒 (20×)	2×0.5ml/2×1ml	
	C05-07004	BiosECL 超敏发光液	2×12.5ml/2×50ml/2×250ml	
	阴性对照	bs-0310PC	正常鸡对照 IgG	100ug/500ug
bs-0326PC		正常牛对照 IgG	100ug/500ug	
bs-0294PC		正常山羊对照 IgG	100ug/500ug	
bs-0295PC		正常兔对照 IgG	100ug/500ug	
bs-0358PC		正常豚鼠对照 IgG	100ug/500ug	
bs-0296PC		正常小鼠对照 IgG	100ug/500ug	
表面活性剂	C1054	NP-40 溶液 (20%)	100ml	
	C-0086	吐温 20	100ml/500ml	

明星产品推荐——WB kit

编号	名称	规格	产品组成
WB001	WB kit (抗兔一抗)	36T	电泳液; 电转液; TBST 洗液; 2× 上样缓冲液; 预染蛋白 Marker; NC 膜; 封闭用 BSA; 封闭用脱脂奶粉; HRP 标记的抗兔二抗; ECL 发光液
WB002	WB kit (抗小鼠一抗)	36T	电泳液; 电转液; TBST 洗液; 2× 上样缓冲液; 预染蛋白 Marker; NC 膜; 封闭用 BSA; 封闭用脱脂奶粉; HRP 标记的抗兔二抗; ECL 发光液

注: 产品具体组成以官网说明书信息为准

特点:

1. 囊括除待测一抗外 Western Blot 实验所需的全部试剂;
2. 即用型试剂盒, 无需配制任何辅助试剂, 只需简单稀释母液即可, 为 Western Blot 检测实验提供了极大便利;
3. 试剂盒内配有详细的说明书及操作指南, 适合新手使用。

Western Blot实验问题指导

问题	可能原因	解决办法
背景高	封闭不充分	延长封闭时间, 更换合适的封闭剂 (脱脂奶粉、BSA、血清等)
	抗体孵育温度过高	4°C 孵育
	一抗或二抗与封闭剂有交叉反应	在孵育液和洗涤液中加入 Tween-20, 以减少交叉反应
	洗膜不充分	增加洗涤次数或时间
	膜不适合	NC 膜比 PVDF 膜背景低
	膜干燥	保证充分的反应液, 避免出现干膜现象
没有阳性条带或条带很弱	转膜不充分	使用丽春红检测转膜效果
	洗膜过度	减少洗涤次数或时间
	封闭过度	使用含 0.5% 脱脂牛奶的抗体稀释液, 或更换封闭剂, 减少封闭时间
	曝光效果不好	延长曝光时间, 使用灵敏度较高的检测试剂盒
多非特异性条带或条带位置不对	蛋白样本降解	使用新鲜制备的标本, 并使用蛋白酶抑制剂
	蛋白存在二聚体或多聚体	SDS-PAGE 电泳上样前, 煮沸 10min, 使蛋白质解聚变性
背景有白色 / 黑色斑点	转膜时有气泡或抗体分布不均	转膜时尽量去除气泡, 抗体孵育时保持平稳摇动
目的条带过低 / 过高	SDS-PAGE 胶浓度不合适	调整胶浓度, 分子量大的蛋白用低浓度胶, 分子量小的蛋白用高浓度胶
“微笑” 条带	迁移过快, 电泳温度过高	降低电泳速度, 低温电泳
转膜不充分	膜没有完全均匀润湿	使用 100% 甲醇提前浸透膜
	转膜液中甲醇浓度过高	过高甲醇浓度会导致蛋白质与 SDS 分离, 沉淀在凝胶中, 同时会使凝胶收缩或变硬, 从而抑制高分子量蛋白转移。可以降低甲醇浓度或者使用乙醇或异丙醇代替
同一蛋白在不同泳道中位置不同	凝胶凝固过快, 丙烯酰胺的百分比不均匀	检查凝胶配方及加入的 TEMED 的比例, 或使用预制胶

此外, Bioass 可提供一站式免疫技术服务, 全面满足您的要求。详情请登录官网 www.bioass.com.cn 查询。