

## Western 溶液套装(封闭液、洗涤液、一抗二抗稀释液)

**产品货号:** AR1201

**产品批号:** 见外包装标签

<b>产品内容:</b>	Western封闭液	100ml
	Western洗涤液	100ml (10×)
	Western一抗二抗稀释液	100ml×2

**产品保存:** 4℃保存，一年有效。

**产品规格:** 按照每次Western blot需要封闭液10ml、一抗稀释液10ml、二抗稀释液10ml、洗涤液30ml+30ml+30ml=90ml，约100ml计算，一个包装的本试剂盒，大约可以进行10次Western Blot检测。

**产品简介:** Western溶液套装是一种包含了Western Blot实验过程中常用的封闭液、洗涤液、一抗和二抗稀释液的溶液套装。

本产品中的一抗二抗稀释液可以用于Western时一抗和二抗的稀释和配制。其主要有效成分为经过反复优化的适量BSA、适当的去垢剂和抗体稳定试剂等，一方面能有效减少一抗二抗的非特异性结合，另一方面能有效提升稀释后抗体的稳定保存时间。使用本Western一抗二抗稀释液稀释的一抗可以在4℃保存和使用不少于六个月，可以反复多次用于Western。经本Western一抗二抗稀释液稀释的二抗可以在1-2周内重复使用3-5次。

本产品中的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。其主要有效成分为经过反复优化的适量BSA和适当的去垢剂等，一方面能有效封闭膜上的蛋白结合位点，另一方面能有效减少后续一抗和二抗的非特异性结合，降低背景，增强信噪比。

本产品中的Western洗涤液(10X)可以用于Western时一抗或二抗孵育后的洗涤。适当的洗涤可以降低背景，增强信噪比。

### 注意事项:

1. 取放PVDF膜和NC膜应使用平头镊子，并仅轻轻夹取其边角，操作过程须避免膜表面产生划痕、折痕或压痕等痕迹。
2. PVDF膜一经湿润和活化，需一直保持湿润，根据Western进行到的具体步骤可放置于western转膜液或洗涤液等适当溶液中，否则可能会产生难以封闭的异常背景。



3. 为了能使抗体可以反复多次使用, 建议尽量在4℃进行一抗和蛋白膜的结合反应, 以减缓一抗的衰减速度。
4. 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℃封闭过夜。
5. 本Western洗涤液(10X)用蒸馏水稀释后使用, 配制成Western洗涤液(1X)后, 宜4℃保存, 并在1-2个月内用完, 如果室温保存, 宜在1-2周内用完。

**使用说明:****1. Western一抗二抗稀释液**

- a. 参考所用的一抗的使用说明, 以及样品中目的蛋白的含量, 按照适当比例稀释一抗, 一抗稀释后即可直接用于Western。一次Western结束后, 可以回收稀释的一抗, 4℃保存, 以用于下次的Western。
- b. 参考所用的二抗的使用说明, 以及一抗的质量和样品中目的蛋白的含量, 按照适当比例稀释二抗, 二抗稀释后即可直接用于Western。一次Western结束后, 可以回收稀释的二抗, 4℃保存, 以用于下次的Western, 通常在1-2周内可以重复使用3-5次。

**2. Western封闭液**

完成转膜后, 用稀释好的Western洗涤液洗涤膜, 共洗涤3次, 每次5分钟, 加入Western封闭液, 封闭60分钟, 然后进行一抗孵育等后续操作。

**3. Western洗涤液(10X)**

- a. 取一瓶Western洗涤液(10X), 倒入到一洁净的量筒中, 加入蒸馏水混匀并定容到1升后即为Western洗涤液(1X), 并可以用于Western的洗涤。没有用完的洗涤液可以室温保存, 通常1-2周内是可以正常使用的。如果发现洗涤液出现浑浊、沉淀等异常现象, 宜废弃。
- b. 在一抗或二抗孵育结束后, 加入少量Western洗涤液(1X), 使之能盖住膜, 在摇床上洗涤, 共洗涤3次, 每次5分钟, 然后进行后续的操作。如果按照上述洗涤条件Western结果背景仍然较高, 可以适当延长洗涤时间, 并增加洗涤次数。通常, 延长洗涤时间或增加洗涤次数不会对Western结果产生负面影响。