

Code No. T7115A

研究用

TaKaRa

Western BLoT
Immuno Booster PF

说明书

目 录

内 容	页 码
● 制品说明	1
● 制品内容	1
● 保 存	1
● 试剂盒以外必备材料	1
● 注意事项	1
● 使用方法	1
● 实验例	1
● Troubleshooting	3
● 关联产品	3

● 制品说明

本制品包含增强抗原-抗体互作的组份, 在进行 Western 印迹等免疫分析实验时, 能够提高检测灵敏度和降低背景。本制品是不含蛋白质 (Protein Free) 的 100% 化学成份的试剂, 本制品可直接作为一抗和二抗的抗体稀释液。同以往含表面活性剂的 Buffer 相比, 其特点是能够缩短反应时间, 减少抗体使用量, 提高微量抗原的检测灵敏度。同时, 本制品不影响辣根过氧化物酶 (HRP) 或碱性磷酸酶 (AP) 的活性, 因此, 适用于 HRP 和 AP 标记二抗的分析体系和包括显色检测与化学发光检测等任何检测方法。使用 HRP 化学发光底物 Western BLoT HRP Substrate 系列产品检测时, 与本制品配套使用可提高检测灵敏度, 能够获得更高的检测信号。

本制品是 Protein Free 型专用试剂, 在 Western blotting 检测时, 封闭液也建议同时使用 Protein Free 的 Western BLoT Blocking Buffer (Protein Free) (Code No. T7132A)。这种不含其它外源蛋白质的检测体系, 能很好地降低非特异性的交叉反应, 因此, 特别适用于检测磷酸化蛋白质或其它低含量抗原。

● 制品内容

Western BLoT Immuno Booster PF 250 ml

● 保存:

4°C

※在适当条件下保存, 收到制品后请在 1 年内用完。

● 试剂盒以外必备材料

免疫分析 (Immunoassay) 所需试剂及仪器:

请先准备好免疫分析 (Western Blotting 等) 所需的全部试剂和仪器。使用本制品不必变更免疫分析操作流程。

● 注意事项

以下为使用本试剂盒时的注意事项, 使用前请一定认真阅读。

1. 本制品不可稀释, 请直接使用。
2. 本制品可直接作为一抗和二抗的稀释液使用。
3. 本制品是 Protein Free 条件下的专用试剂。反应中的封闭液也建议使用 Protein Free 型 Blocking Buffer, 如: Western BLoT Blocking Buffer (Protein Free) (Code No. T7132A)。

● 使用方法

1. 稀释抗体:
使用本制品先将抗体稀释至适当的浓度。抗体浓度虽然与以往相同, 但因本制品提高了检测灵敏度, 可减少抗体使用量。必要时进行预实验, 优化抗体浓度。
2. 免疫分析:
使用本制品稀释抗体后进行免疫分析 (Western Blotting 等), 操作方法与常规操作方法相同, 无需变更。
3. 检测:
与常规操作方法相同, 无需变更。但因使用本制品可提高检测灵敏度, 需适当调整显色时间和曝光时间。请避免反应时间过长, 以免造成背景过高的结果。

● 实验例

下面是本制品检测效果的实验例。

实验例 (1)

检测样品: HeLa Cell Lysate (5、2.5、1.25、0.625、0.312 μ g/Lane)

封闭缓冲液: Western BLoT Blocking Buffer (Protein Free) (Code No. T7132A)

一抗: Monoclonal Anti- β -actin, clone AC-15 (2 mg/ml) [isotype IgG1] (终浓度 0.5 μ g/ml)

二抗: Goat Anti-Mouse IgG (H+L) Peroxidase conjugated (终浓度 0.16 μ g/ml)

抗体稀释: 分别使用下面的试剂, 将抗体稀释到上述指定的浓度。

1	Western BLoT Blocking Buffer (Protein Free)
2	本制品: Western BLoT Immuno Booster PF

底物: Western BLoT Chemiluminescence HRP Substrate (Code No. T7101A)

洗液: TBS-T (10 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 0.1% Tween 20, pH7.6)

1. Western BLoT Blocking Buffer
(Protein Free)

5 2.5 1.25 0.625 0.312

2. Western BLoT Immuno Booster PF

5 2.5 1.25 0.625 0.312 (μ g)



曝光 5 分钟

实验例 (2)

检测样品: Human Transferrin (50、25、12.5、6.25、3.12、1.56 ng/Lane)

封闭缓冲液: Western BLoT Blocking Buffer (Protein Free) (Code No. T7132A)

一抗: Goat anti-Human Transferrin affinity purified (终浓度 0.5 μ g/ml)

二抗: Affinity Purified Antibody Peroxidase Label Rabbit anti-Goat IgG (H+L) (终浓度 0.1 μ g/ml)

抗体稀释: 分别使用下面的试剂, 将抗体稀释到上述指定的浓度。

1	TBS-T
2	Western BLoT Immuno Booster (Code No. T7111A)
3	A 公司的反应增强试剂
4	本制品: Western BLoT Immuno Booster PF

底物: Western BLoT Chemiluminescence HRP Substrate (Code No. T7101A)

洗液: TBS-T (10 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 0.1% Tween 20, pH7.6)

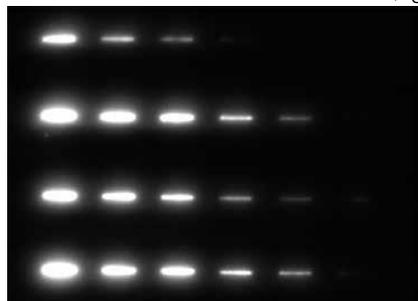
50 25 12.5 6.25 3.12 1.56 (ng)

1. TBS-T

2. Western BLoT Immuno Booster

3. A 公司的反应增强试剂

4. Western BLoT Immuno Booster PF



曝光 5 分钟

● Troubleshooting

由于 Western 印迹反应步骤较多，因此，有必要优化反应条件。建议先进行预实验，确定蛋白质样品使用量、一抗和二抗的最适稀释倍数及其他参数。

问题点	原因	解决方法
背景高	使用的一抗浓度过高	提高一抗的稀释倍数以降低抗体浓度
	抗原使用量过多	减少抗原使用量
	封闭不充分	优化封闭条件
	封闭缓冲液不合适	封闭缓冲液中含有蛋白质， 建议使用 Western BLoT Blocking Buffer (Protein Free) (Code No. T7132A)
	曝光时间过长（使用 X 射线胶片时）	缩短曝光时间
	洗涤不充分	增加洗涤时间和洗涤次数，增加洗液使用量
无蛋白质条带或检测信号弱	一抗不合适	确认使用的一抗正确，以及目的蛋白质没有降解
	二抗的种类不合适	确认二抗可识别一抗，二抗没有降解
	抗原或抗体使用量不足	增加抗原或抗体的使用量
	蛋白质转膜不充分	优化转膜条件
	曝光时间过短（使用 X 射线胶片时）	延长曝光时间

● 关联产品

<Western BLoT HRP Substrate 系列产品>

Western BLoT Chemiluminescence HRP Substrate (Code No. T7101A/B)

Western BLoT Quant HRP Substrate (Code No. T7102A/B)

Western BLoT Hyper HRP Substrate (Code No. T7103A/B)

Western BLoT Ultra Sensitive HRP Substrate (Code No. T7104A/B)

<Western 印迹化学发光增强剂>

Western BLoT Immuno Booster (Code No. T7111A)

Western BLoT Immuno Booster PF (Code No. T7115A)

<二抗替代物>

Western BLoT Rapid Detect v2.0 (Code No. T7122A)

<Blocking Buffer>

Western BLoT Blocking Buffer (Protein Free) (Code No. T7132A)

<Stripping Buffer>

Western BLoT Stripping Buffer (Cat. #T7135A)

<缓冲液>

Tris-Glycine-SDS Buffer (TG-SDS) Powder, pH8.3 (Code No. T9101)

Tris-Glycine Buffer (TG) Powder, pH8.3 (Code No. T9102)

Tris Buffered Saline (TBS) Tablets, pH7.6 (Code No. T9141)

Tris Buffered Saline with Tween 20 (TBS-T) Tablets, pH7.6 (Code No. T9142)
Phosphate Buffered Saline (PBS) Tablets, pH7.4 (Code No. T9181)
Phosphate Buffered Saline (PBS) Tablets without Potassium, pH7.4 (Code No. T9182)
Phosphate Buffered Saline with Tween 20 (PBS-T) Tablets, pH7.4 (Code No. T9183)

<Protein Ladder Marker >
CLEARLY Protein Ladder (Unstained) (Code No. 3453A/B)
CLEARLY Stained Protein Ladder (Code No. 3454A/B)

注意

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经Takara Bio Inc.书面许可授权或批准，不得制造、许诺销售、销售、进口Takara产品，或者使用Takara产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权，请联络我们，或访问我们网站www.takara-bio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术（北京）有限公司翻译制作，最新版本文件请参考Takara Bio Inc.网站。为正确使用Takara产品，您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

技术咨询热线：

0411-87641685, 87641686

4006518761, 4006518769

TAKARA BIO INC.

URL: <http://www.takarabiomed.com.cn>