

## His标签蛋白超快速Western检测试剂盒

| 产品编号   | 产品名称                   | 包装     |
|--------|------------------------|--------|
| P0984S | His标签蛋白超快速Western检测试剂盒 | 6-15次  |
| P0984M | His标签蛋白超快速Western检测试剂盒 | 30-75次 |

### 产品简介:

- 碧云天研发生产的His标签蛋白超快速Western检测试剂盒(Superquick Western Assay Kit for His Tag), 是一种仅需10分钟就可以从完成转印的印迹膜到获得带His标签的融合蛋白条带的超快速Western检测试剂盒。本试剂盒包含了Anti-His Tag-HRP、QuickBlock™封闭和抗体稀释液、Western洗涤液、以及BeyoECL Star化学发光试剂的试剂盒, 一抗和二抗孵育合并为一步操作, 使用便捷, 背景低, 包含从封闭到化学发光的整套试剂, 转膜完成后通常10分钟就可以得到高质量的标签蛋白Western结果, 可以极大加快标签蛋白的检测速度。
- Flag标签、HA标签、Myc标签、His标签、GST标签等是表达载体上最常见的一些标签, 通过与这些标签的融合表达可以非常方便地用于目的蛋白的表达、纯化或检测, 无需目的蛋白特异的抗体[1-2]。本系列产品目前包括Flag标签蛋白/HA标签蛋白/Myc标签蛋白/His标签蛋白/His标签蛋白(C-terminal)/GFP标签蛋白/GST标签蛋白/V5标签蛋白/MBP标签蛋白/StrepII标签蛋白/AVI标签蛋白超快速Western检测试剂盒(P0981/P0982/P0983/P0984/P0985/P0986/P0987/P0988/P0990/P0992/P0997)。
- 本试剂盒中的QuickBlock™封闭和抗体稀释液, 可同时用于印迹膜的封闭和抗体的稀释。封闭时间仅需1分钟, 总体效果显著优于传统的基于BSA(牛血清白蛋白)、脱脂奶粉、酪蛋白(Casein)等的封闭液。本产品稀释和配制的标签抗体工作液, 可以在4℃保存和使用不少于1个月, 并且可以重复使用。
- 本试剂盒使用了Anti-His Tag-HRP, 因此一抗和二抗的孵育仅需一步即可完成。抗体特异性高、灵敏度极佳, 使用浓度经过优化, 按照1:500比例稀释, 室温通常孵育5分钟即可进行后续的洗涤和检测。
- 本试剂盒中提供的BeyoECL Star化学发光试剂, 灵敏度高、背景极低、发光时间长, 适用于大多数常规的Western检测。特殊情况下, 如果成像效果需要优化, 可根据当前实验结果选择灵敏度更高的BeyoECL Moon (P0018F)或BeyoECL SuperMoon (P0018H)。
- 使用本试剂盒从完成转印的印迹膜开始实际操作约10分钟, 检测获得的His Tag条带的效果, 请参见图1。

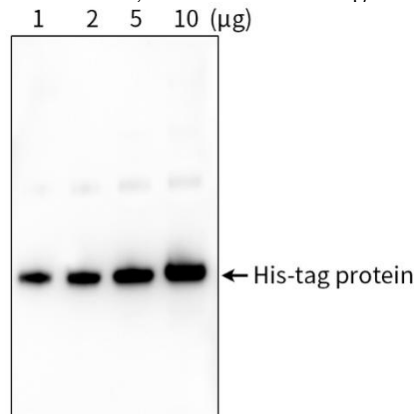


图1. 碧云天His标签蛋白超快速Western检测试剂盒(P0984)的检测效果图。每组实验从左到右为1µg、2µg、5µg、10µg总蛋白量的含His标签融合蛋白HEK293细胞裂解液, Western印迹成像由BeyoImager™ 600化学发光成像系统(EI600)完成。根据灰度分析, 各蛋白裂解液样品的His Tag条带灰度与上样量成相应的比例关系。实际实验结果会因样品、抗体、实验条件等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- 如果检测的是6.6×8.5cm印迹膜, 按照每次Western封闭需要QuickBlock™封闭和抗体稀释液5ml, 稀释抗体需要QuickBlock™封闭和抗体稀释液5ml, 抗体10µl, 稀释后的抗体共计可以使用3次, 洗涤液每次使用10ml, 化学发光试剂工作液每次需要1ml计算, 本试剂盒小包装和中包装分别可以进行6次和30次His Tag的Western快速检测。如果检测的是更常见的裁切后的约2×8.5cm印迹膜, 按照封闭以及抗体孵育液体用量为每次2ml, 洗涤液用量每次4ml, 发光试剂工作液用量每次0.4ml计算, 小包装和中包装分别可以检测15次和75次。

### 包装清单:

| 产品编号     | 产品名称             | 包装   |
|----------|------------------|------|
| P0984S-1 | Anti-His Tag-HRP | 20µl |

|          |                     |       |
|----------|---------------------|-------|
| P0984S-2 | QuickBlock™封闭和抗体稀释液 | 40ml  |
| P0984S-3 | Western洗涤液          | 200ml |
| P0984S-4 | BeyoECL Star A液     | 3ml   |
| P0984S-5 | BeyoECL Star B液     | 3ml   |
| -        | 说明书                 | 1份    |

| 产品编号     | 产品名称                | 包装      |
|----------|---------------------|---------|
| P0984M-1 | Anti-His Tag-HRP    | 100μl   |
| P0984M-2 | QuickBlock™封闭和抗体稀释液 | 200ml   |
| P0984M-3 | Western洗涤液          | 2×500ml |
| P0984M-4 | BeyoECL Star A液     | 15ml    |
| P0984M-5 | BeyoECL Star B液     | 15ml    |
| -        | 说明书                 | 1份      |

### 保存条件：

-20°C保存，一年有效。QuickBlock™封闭和抗体稀释液、Western洗涤液以及BeyoECL Star A液和B液，4°C保存，至少6个月有效。

### 注意事项：

- 请注意回收使用过的抗体工作液。回收的抗体工作液可以再重复使用2次。稀释后的抗体，包括使用过的抗体工作液，请4°C保存。
- 回收后重复使用的抗体工作液，使用方法同新鲜稀释的抗体。如果在重复使用过程中发现抗体出现轻微混浊现象，可以10,000×g离心1-3分钟，取上清用于后续检测。如果回收的抗体工作液出现明显的絮状物或长霉长菌等情况，则可以考虑废弃该抗体。
- 使用本产品，通常10分钟可得到高质量的标签蛋白Western结果，即封闭1分钟、抗体孵育5分钟、洗涤30秒3次、BeyoECL试剂孵育1分钟、成像通常0.5分钟之内。
- 对于6.6×8.5cm的印迹膜，推荐使用碧云天的Western洗膜盒(FFX050)进行洗涤和孵育；对于裁切后的条形印迹膜，推荐使用碧云天的5格Western洗膜盒(FFX055)进行洗涤和孵育。
- 个别情况，如果希望获得更好的Western结果，可适当增加封闭、抗体孵育及洗涤的时间，并适当优化成像的曝光时间。
- BeyoECL Star A液和B液均对人体有害，操作时请小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
- 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。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 使用说明：

#### 以6.6×8.5cm的印迹膜为例：

#### 1. 膜的封闭。

- 完成转膜后，立即把印迹膜(约6.6×8.5cm)放置到预先加入5ml QuickBlock™封闭和抗体稀释液的Western洗膜盒(FFX050)中，置于翘板摇床上缓慢摇动，**室温封闭1分钟**。推荐使用BeyoShaker™数字式翘板摇床(E6673)。后续若无特殊说明，各种试剂的用量都以约6.6×8.5cm大小的印迹膜为例进行说明。

**注1：**经反复测试，室温封闭1分钟即可达到理想的封闭效果，但也可以根据实际情况酌情延长封闭时间。如果需要更多的封闭液，推荐碧云天的QuickBlock™ Western封闭液(P0252)。

**注2：**如果使用裁切后的约2×8.5cm印迹膜，推荐使用2ml QuickBlock™封闭和抗体稀释液。

#### 2. 抗体孵育。

- Anti-His Tag-HRP抗体工作液的配制。推荐**抗体稀释比例为1:500**，例如在5ml QuickBlock™封闭和抗体稀释液中加入10μl Anti-His Tag-HRP，即可得到5ml Anti-His Tag-HRP抗体工作液。

**注：**通常1:500稀释可以适用于大多数情况，但如果遇到样品中目的蛋白过少或过多时，也可以根据实际情况在1:250~1:1000范围内进行调整。如果需要更多的抗体稀释液，推荐碧云天的QuickBlock™ Western一抗稀释液(P0256)。

- 用微型台式真空泵、移液器或滴管等吸尽用于封闭的QuickBlock™封闭和抗体稀释液。推荐使用BeyoVac™基础型台式真空吸液器(E6878)或BeyoVac™调速型台式真空吸液器(E6883)。

- 加入**5ml Anti-His Tag-HRP抗体工作液**。如果是裁切后的约2×8.5cm印迹膜，推荐用量为2ml。

- 置于翘板摇床上缓慢摇动，**室温孵育5分钟**。

**注：**经反复测试，室温孵育5分钟即可达到理想检测效果，但也可以根据实际情况酌情延长抗体孵育时间。

- 回收抗体工作液，留待后续重复使用。

- 使用**Western洗涤液洗涤3次，每次的用量为10ml，每次30秒**。如果是裁切后的约2×8.5cm印迹膜，每次的推荐用量为4ml。

**注：**经反复测试，洗涤3次，每次30秒，即可达到理想效果，但也可以根据实际情况酌情延长洗涤时间或增加洗涤次数。

如果需要更多的Western洗涤液，推荐碧云天的Western洗涤液(P0023C)或Western洗涤液(10X) (P0023C3/P0023C6)。

#### 3. 蛋白检测。

- BeyoECL Star工作液的配制：混合0.5ml BeyoECL Star A液和0.5ml BeyoECL Star B液，配制成1ml BeyoECL Star工作液，室温放置备用。工作液宜在临检测前配制。如果是裁切后的约2×8.5cm印迹膜，BeyoECL Star工作液配制0.4ml即可。

- b. 用WB专用镊子(FS035)将膜取出, 用吸水纸略吸去过多的液体(切勿接触膜的蛋白面), 然后置于一洁净保鲜膜上。
- c. 滴加1ml BeyoECL Star工作液到膜上, 确保使工作液均匀覆盖在膜上, 放置1分钟。如果是裁切后的约2×8.5cm印迹膜, BeyoECL Star工作液的推荐用量为0.4ml。  
注: 通常放置1分钟就可以进行后续的成像或压片检测, 但也可以根据实际情况酌情延长放置时间。如果需要更多的BeyoECL Star, 推荐碧云天的BeyoECL Star (特超敏ECL化学发光试剂盒) (P0018A)。
- d. 取膜, 弃BeyoECL Star工作液, 用吸水纸略吸去过多的液体。将膜放在两片保鲜膜中间, 随后进行化学发光成像仪检测或压片检测。

注: 详细的Western实验步骤可以参考碧云天的相关网页: <http://www.beyotime.com/support/western.htm>。

#### 参考文献:

1. Terpe, K. Appl Microbiol Biotechnol. 2003. 60, 523–533.
2. Cho S Y, Park S G, Lee D H, et al. BMB Reports. 2004. 37(1): 45-52.

#### 相关产品:

| 产品编号   | 产品名称                               | 包装     |
|--------|------------------------------------|--------|
| P0970S | Actin超快速Western检测试剂盒               | 6-15次  |
| P0970M | Actin超快速Western检测试剂盒               | 30-75次 |
| P0971S | GAPDH超快速Western检测试剂盒               | 6-15次  |
| P0971M | GAPDH超快速Western检测试剂盒               | 30-75次 |
| P0972S | Tubulin超快速Western检测试剂盒             | 6-15次  |
| P0972M | Tubulin超快速Western检测试剂盒             | 30-75次 |
| P0981S | Flag标签蛋白超快速Western检测试剂盒            | 6-15次  |
| P0981M | Flag标签蛋白超快速Western检测试剂盒            | 30-75次 |
| P0982S | HA标签蛋白超快速Western检测试剂盒              | 6-15次  |
| P0982M | HA标签蛋白超快速Western检测试剂盒              | 30-75次 |
| P0983S | Myc标签蛋白超快速Western检测试剂盒             | 6-15次  |
| P0983M | Myc标签蛋白超快速Western检测试剂盒             | 30-75次 |
| P0984S | His标签蛋白超快速Western检测试剂盒             | 6-15次  |
| P0984M | His标签蛋白超快速Western检测试剂盒             | 30-75次 |
| P0985S | His标签蛋白(C-terminal)超快速Western检测试剂盒 | 6-15次  |
| P0986S | GFP标签蛋白超快速Western检测试剂盒             | 6-15次  |
| P0986M | GFP标签蛋白超快速Western检测试剂盒             | 30-75次 |
| P0987S | GST标签蛋白超快速Western检测试剂盒             | 6-15次  |
| P0988S | V5标签蛋白超快速Western检测试剂盒              | 6-15次  |
| P0990S | MBP标签蛋白超快速Western检测试剂盒             | 6-15次  |
| P0992S | StrepII标签蛋白超快速Western检测试剂盒         | 6-15次  |
| P0997S | AVI标签蛋白超快速Western检测试剂盒             | 6-15次  |

Version 2024.06.27