

碧云天Western Blot检测服务介绍

Western Blot Services by Beyotime



碧云天
Beyotime



碧云天网站



微信公众号

碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology

订购热线: 400-168-3301或800-8283301

技术咨询: info@beyotime.com

技术服务: service@beyotime.com

网址: <http://www.beyotime.com>

碧云天Western Blot检测技术服务

概述

- Western Blot即蛋白质免疫印迹法，也称Western、Western blotting、Western印迹，常简称为WB，是将电泳分离后的细胞或组织总蛋白质从聚丙烯酰胺凝胶转移到固相支持物PVDF或NC膜膜上，然后用特异性抗体检测某特定抗原的一种蛋白质检测技术。

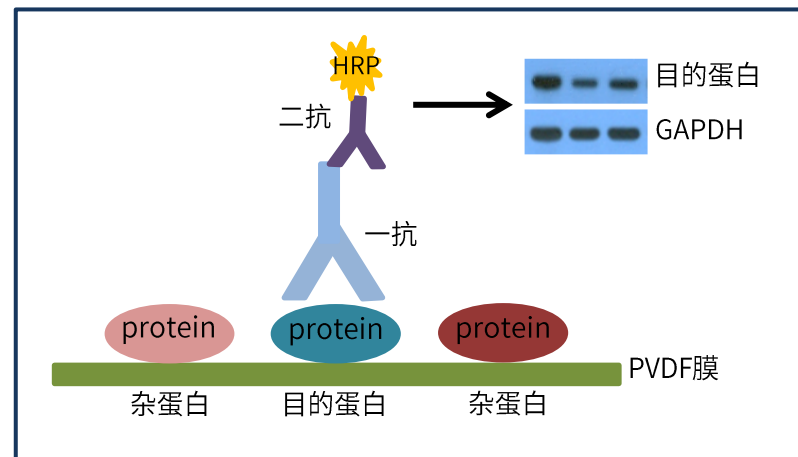
➤ Western Blot应用

- 研究检测样品中特异性蛋白质的存在
- 细胞中特异蛋白质的半定量分析
- 蛋白质分子的相互作用研究

碧云天Western Blot检测技术服务

Western Blot基本原理

- Western Blot: 经过聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)分离的蛋白质样品, 通过转膜方式转移到固相载体(如PVDF、NC膜)上, 固相载体以非共价键形式吸附蛋白质, 且能保持电泳分离的多肽类型及其生物学活性不变。以固相载体上的蛋白质或多肽作为抗原, 与对应的抗体起免疫反应, 再与酶标记(通常是HRP)的第二抗体起反应, 经过底物化学发光试剂(如ECL)发光或显示试剂(如DAB)显色以检测电泳分离的特异性目的基因表达的蛋白成分。



碧云天Western Blot检测技术服务

碧云天的优势

- ◆ **金品质**——碧云天专业的技术团队可以根据客户样本摸索最佳条件，提供最优质的服务。
- ◆ **服务全**——碧云天提供蛋白提取、WB检测、结果分析等一站式服务，用户可根据需求自由定制服务。
- ◆ **质量高**——碧云天凭借多年的WB试剂盒研发经验，为您提供准确可信的实验数据及专业的结果分析。

碧云天Western Blot检测技术服务

蛋白提取

- WB过程中最重要的一点就是确定目的蛋白在组织、细胞中的定位，然后选择合适的方法提取目的蛋白。
 - Western及IP细胞裂解液(P0013)
 - 细胞核蛋白与细胞浆蛋白抽提试剂盒(P0027)
 - 细胞膜蛋白与细胞浆蛋白抽提试剂盒(P0033)
 - 细胞线粒体分离试剂盒(C3601)
- 防止蛋白裂解
 - ◆ 冰上操作
 - ◆ 加入蛋白酶抑制剂
 - 蛋白酶抑制剂混合物(通用型, 100X)(P1005)
 - 蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(通用型, 50X) (P1045)
 - 去乙酰化酶抑制剂混合物(100X)(P1112)

碧云天Western Blot检测技术服务

蛋白定量

➤ Bradford法



考马斯亮蓝G-250在酸性条件下与蛋白结合后形成蓝色化合物，该化合物在595nm处有最大吸收值，化合物颜色深浅与蛋白的浓度高低成正比。

操作简便，时间短。受去污剂影响较大。

- Bradford蛋白浓度测定试剂盒(P0006)
- Bradford蛋白浓度测定试剂盒(去垢剂兼容型) (P0006C)

➤ BCA法



碱性条件下，蛋白将 Cu^{++} 还原为 Cu^{+} ， Cu^{+} 与BCA试剂形成紫色的络合物，并在562nm处有最大吸收值。

操作相对简单，45min左右。受还原剂和金属离子影响较大。

- BCA蛋白浓度测定试剂盒(增强型)(P0010)
- BCA蛋白浓度测定试剂盒(P0012)
- 蛋白标准(5mg/ml BSA)(P0007)

碧云天Western Blot检测技术服务

SDS-PAGE凝胶电泳

➤ SDS

- 离子性的活性剂，变性剂
- ◆ 氨基酸侧链与SDS充分结合形成带负电荷的蛋白质-SDS胶束
- 蛋白质-SDS胶束所带的负电荷大大超过了蛋白质分子原有的电荷量，消除了不同分子之间的电荷差异
- ◆ 决定不同蛋白的泳动速率只剩下分子大小这一因素
- 与强还原剂一起使蛋白分子氢键、疏水键打开，是蛋白质分子线性化。



SDS-PAGE凝胶快速配制试剂盒 (P0012AC)

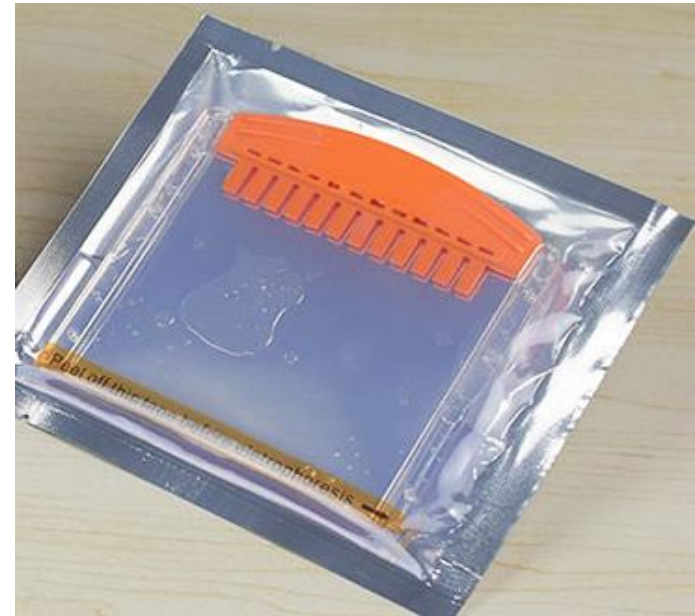
SDS-PAGE电泳液(P0014A/B)

碧云天Western Blot检测技术服务

SDS-PAGE凝胶电泳

➤ SDS-PAGE凝胶

- BeyoGel™ SDS-PAGE预制胶
- BeyoGel™ Plus PAGE预制胶



碧云天Western Blot检测技术服务

转膜

➤ 半干法



将凝胶和固相基质像三明治一样夹在用缓冲液湿润滤纸间，电转10-30min。

适合转移小分子量的蛋白

- Western半干法转膜液(P0021C/D)

➤ 湿法



将凝胶和固相基质夹滤纸间，浸泡在转移装置的缓冲液中，电转45min或过夜。

适合转移大分子量(100kD以上)蛋白

- Western转膜液(P0021A/B)

碧云天Western Blot检测技术服务

封闭

- QuickBlock™ Western封闭液(P0252)
- Western Blot封闭液(P0023B)



碧云天Western Blot检测技术服务

一抗的选择

➤ 一抗的选择

- 确定所研究的目的蛋白，根据目的蛋白的名称查询相关抗体。
- **单克隆抗体或多克隆抗体**
- 直接标记的抗体或者未标记的抗体

➤ 抗体的实验目的：对不同实验选择不同抗体

- WB(免疫印迹)、IHC(免疫组化)、ELISA(酶联免疫反应)、FC(流式细胞检测)、IP(免疫沉淀)

➤ 抗体所检测的种属：人、小鼠、大鼠等

碧云天Western Blot检测技术服务

二抗的选择

➤ 二抗的选择

- 根据一抗物种

抗鼠 抗兔 抗人 抗羊 抗马 抗鸡

- 根据标记物

HRP、AP、Blotin、荧光标记、无标记

- 荧光标记抗体

红色	Cy3、TRITC、RRX、Texas Red X、Dylight549、Dylight594、Dylight649、
绿色	FITC、Cy2、Dylight488
蓝色	AMCA
近红外线	Cy5

碧云天Western Blot检测技术服务

曝光显影

➤ 化学发光法

- 常用HRP酶标系统的显色底物为ECL鲁米诺(Luminol)

无毒害、灵敏度高、速度快、特异性好、节省抗体、线性宽；可重新剥离检测。

➤ 化学显色法

- 常用酶标系统HRP的显色底物为TMB和DAB
- 酶标系统AP的显色底物为BCIP何NBT

方便、便宜；具有一定毒性、灵敏度低、反应速度慢；检测后的膜不可重新剥离检测

碧云天Western Blot检测技术服务

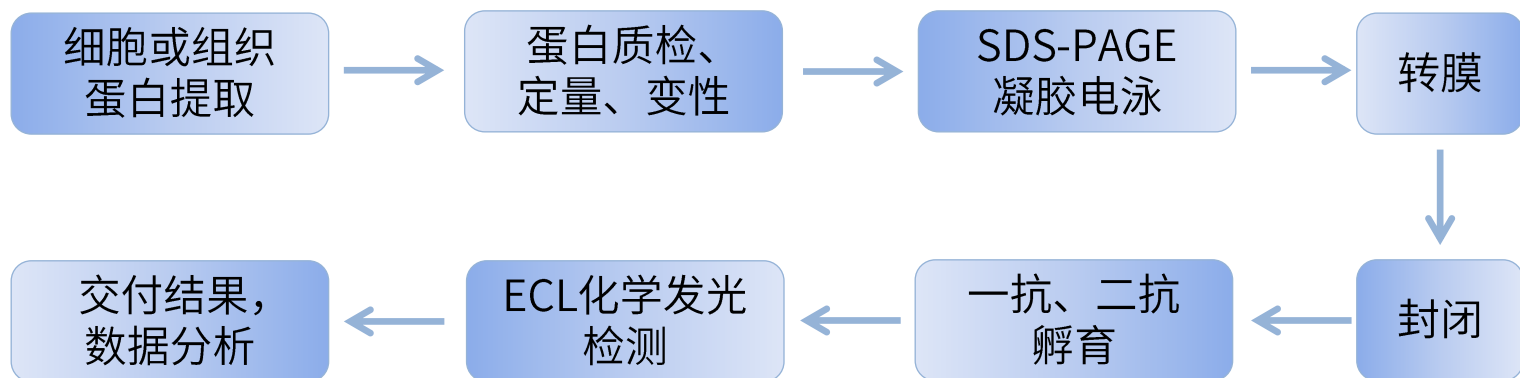
曝光显影试剂盒

- BCIP/NBT碱性磷酸酯酶显色试剂盒(C3206)
- BeyoECL Plus(超敏ECL化学发光试剂盒)(P0018)
- BeyoECL Star(特超敏ECL化学发光试剂盒)(P0018A)
- BeyoECL Moon (极超敏ECL化学发光试剂盒)(P0018F)
- 显影定影试剂盒(P0019) (P0020)



碧云天Western Blot检测技术服务

服务流程



碧云天Western Blot检测技术服务

询价与订购

- 请您下载并填写碧云天Western Blot技术服务询价单，发送至 service@beyotime.com，我们的专业技术人员将在第一时间为您提供准确报价。
- 若有订购意向，碧云天的技术服务人员会与您联系，并签订《碧云天Western Blot检测服务协议书》。

碧云天Western Blot检测技术服务

客户须知

- 客户需提供样品：新鲜或正确保存的组织、细胞或蛋白样品，组织样品：每份样品约250~500mg，细胞样品：每份样品约 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 细胞数，蛋白样品：每份样品约100-150 μg ，浓度 $\geq 2\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ；
- 碧云天建议客户提供目的蛋白阳性对照；
- 若客户提供一抗，须为符合技术要求的浓缩或即用型一抗，也可由碧云天代购进口原装抗体；
- 客户提供待检测目的蛋白的详细信息，包括蛋白种属、大小、参考文献等；
- 运输要求：干冰或液氮包装寄送，样本应避免各类污染和反复冻融；
- 客户应对所提供的材料及信息负责，如因客户提供的材料及信息不准确而引起的实验延误或经济损失由客户承担。

碧云天Western Blot检测技术服务

服务承诺

- 碧云天承诺提供高分辨率的清晰图片，准确、客观、可信的检测数据和分析结果：
 - 胶片及胶片显影图，或化学发光成像图片，实验所剩余的试剂；
 - 蛋白定量结果(Excel)；
 - 蛋白灰度值分析结果(Excel)；
 - 实验报告(包括详细实验步骤及WB结果相关的图表)。

Thank You



碧云天
Beyotime



碧云天网站



微信公众号

碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
订购热线：400-168-3301或800-8283301
技术咨询：info@beyotime.com
技术服务：service@beyotime.com
网址：<http://www.beyotime.com>