Western Blot 全套试剂选择指南

Western blot，又称 western blotting，是一种被广泛使用的，用于从复杂混合物中分离和鉴别特定蛋白可视化的技术。使用 western blot 可以测定样本间的蛋白表达相对量，同时确定靶蛋白的分子量，有助于进一步了解翻译后加工。

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。

扫描二维码 关注Bioss

蛋白免疫印迹 (WB) 实验流程及配套试剂

蛋白提取

C5028	RIPA裂解液(中)
C5029	RIPA裂解液(强)
C05-01002	PMSF (100mM)
PIC008	蛋白酶抑制剂混合物

蛋白定量

(确认合适上样量)

C05-02001	BCA蛋白定量试剂盒

制备上样样品

(用上样缓冲液处理蛋白样品)

C05-03001	5×蛋白上样缓冲液(含巯基还原剂)
C05-03002	5×蛋白上样缓冲液(非还原)

配胶上样及电泳 SDS-PAGE

配制聚丙烯酰胺凝胶

C-0047	SDS-PAGE凝胶制备试剂盒
C05-03004	30%(29:1)制胶液
C05-03005	1.5M Tris-HCl缓冲液 (pH8.8)
C05-03006	1M Tris-HCl缓冲液 (pH6.8)
C05-03007	10% SDS(十二烷基硫酸钠)
C05-03008	PAGE胶促凝剂
C05-03009	10% PAGE胶凝固剂

蛋白Marker

C05-09002	彩色预染蛋白Marker (10-180 kDa)
PME001	非预染可曝光蛋白Marker

配制电泳缓冲液

C05-03010	Tris-甘氨酸蛋白电泳缓冲液 (1×,粉剂)
C05-03011	Tris-甘氨酸蛋白电泳缓冲液 (10×,粉剂)

凝胶染色

C05-04001	考马斯亮蓝快速染色液
C5036	超敏蛋白快速染色液

转膜

转膜缓冲液

C05-05003	1×电泳转移缓冲液(转膜液)粉剂
C05-05004	10×电泳转移缓冲液(转膜液)粉剂
C5058	10×转膜缓冲液

C55001/C55003	NC膜
C55005/C55008	PVDF膜
C05-04002	10×丽春红染色液

封闭

(5%牛奶或5%BSA室温封闭1h)

C05-06001	WB封闭液(脱脂奶粉)
C05-06002	WB封闭液 (5%BSA)
C1066	快速封闭液速溶颗粒 (TBST)

一抗孵育

C05-07001	通用型WB抗体稀释液 (TBS)

洗膜

(1×TBST洗3次*5min)

C05-07003	10×TBST缓冲液 pH=7.4

二抗孵育

C05-07001	通用型WB抗体稀释液 (TBS)

洗膜

(1×TBST洗4次*5min)

显色

C05-07004	BiossECL超敏发光液

WB 实验注意事项:

1、样品处理时应保证低温操作,防止蛋白自溶或降解;

2、转膜时应冷却转膜液,防止温度过高;

3、磷酸化蛋白使用 BSA 作为封闭液,脱脂奶粉会对磷酸化蛋白检测有影响;

4、叠氮钠对 HRP 有抑制性,即使用 HRP 为标记二抗时,缓冲液中不能使用叠氮钠作为防腐剂。

Western Blot 配套试剂表

All-in-one Kit（含电泳到显影全部试剂）

分类	编号	名称	规格
WB 试剂盒	WB001	WB 检测试剂盒 (抗兔一抗)	36T
	WB002	WB 检测试剂盒 (抗小鼠一抗)	36T

蛋白样本制备

分类	编号	名称	规格
蛋白提取	C1054	NP-40 溶液 (20%)	100ml
	C5026	NP-40 裂解液 (即用型)	100ml
	C5027	RIPA 裂解液 (弱)	100ml
	C5028	RIPA 裂解液 (中)	100ml
	C5029	RIPA 裂解液 (强)	100ml
	C5031	RIPA 裂解液 (强中弱套装)	3×50ml
	C5030	SDS 裂解液	100ml
	C-0013	Western 及 IP 细胞裂解液 (非变性)	30ml/60ml/100ml
	C5037	植物线粒体膜蛋白提取试剂盒	50T/100T
蛋白酶抑制剂	C05-01002	PMSF 蛋白酶抑制剂 (100mM)	1ml/10ml/1ml×10
	Y-0067	亮抑酶肽	5mg/10mg
	D10359	胰蛋白酶抑制剂	100mg
	D50381	4-(2- 氨乙基) 苯磺酰氟盐酸盐	10mg/1ml (10mM/DMSO)/100mg
	D50383	E-64 蛋白酶抑制剂 (进口分装)	5mg
	D50393	胃蛋白酶抑制剂	5mg
	D50399	ML323(DUB 抑制剂)	5mg
	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
	PIC008	蛋白酶抑制剂混合物 (哺乳动物样品抽提用 ,100×)	1ml/1ml×10
	C51003	磷酸酶抑制剂混合物组合 (2 Tubes, 100×)	1ml A + 1ml B
蛋白定量	C05-02001	BCA 蛋白定量试剂盒	40ml(200T)/100ml(500T)/100ml×10(5000T)
	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
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 (非还原)	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 (非还原)	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 (非还原)	5ml
	C05-03017	荧光蛋白上样缓冲液	100ul/1ml
	C05-03018	荧光蛋白上样缓冲液 (非还原)	100ul/1ml

SDS PAGE

分类	编号	名称	规格
凝胶配制	C-0047	SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒	40-60 块
	C05-03004	30%(29:1) 制胶液	100ml/500ml
	C05-03005	1.5M Tris-HCl 缓冲液 (pH8.8)	100ml/500ml
	C05-03006	1M Tris-HCl 缓冲液 (pH6.8)	100ml/500ml
	C05-03007	10% SDS(十二烷基硫酸钠)	100ml
	C05-03009	10% PAGE 胶凝固剂	1ml/1ml×8/1ml×20
	C05-03008	PAGE 胶促凝剂 (进口分装)	1ml/10ml/100ml
预制胶	C53038	预制胶 (Bis-Tris, MOPS, 4-20%, 15 孔)	10 片 / 盒
	C53039	预制胶 (Bis-Tris, MOPS, 4-12%, 15 孔)	10 片 / 盒
	C53043	Glass Gel 中型预制胶 (Tris-Bicine) , 8%, 20/26 孔	20 孔 /5 片 / 盒 /26 孔 /5 片 / 盒
	C53044	Glass Gel 中型预制胶 (Tris-Bicine) , 10%, 20/26 孔	20 孔 /5 片 / 盒 /26 孔 /5 片 / 盒
	C53045	Glass Gel 中型预制胶 (Tris-Bicine) , 12%, (20/26 孔)	20 孔 /5 片 / 盒 /26 孔 /5 片 / 盒
	C53046	Glass Gel 中型预制胶 (Tris-Bicine) , 4-12%,20/26 孔	20 孔 /5 片 / 盒 /26 孔 /5 片 / 盒
	C53047	Glass Gel 中型预制胶 (Tris-Acetate) , 26 孔 , 7%	5 片 / 盒
	C53048	Glass Gel 中型预制胶 (Tris-Acetate) , 26 孔 , 3-8%	5 片 / 盒
	C53049	Glass Gel 中型预制胶 (Tris-Gly) , 26 孔 , 6%	5 片 / 盒
	C53050	Glass Gel 中型预制胶 (Tris-Gly) , 26 孔 , 8%	5 片 / 盒
	C53051	Glass Gel 中型预制胶 (Tris-Gly) , 26 孔 , 10%	5 片 / 盒
	C53052	Glass Gel 中型预制胶 (Tris-Gly) , 26 孔 , 12%	5 片 / 盒
	C53053	Glass Gel 中型预制胶 (Tris-Gly) , 26 孔 , 15%	5 片 / 盒
	C53054	Glass Gel 中型预制胶 (Tris-Gly) , 26 孔 , 4-15%	5 片 / 盒
	C53055	Glass Gel 中型预制胶 (Tris-Gly) , 26 孔 , 4-20%	5 片 / 盒
	C53056	Glass Gel 中型预制胶 (Tris-Gly) , 26 孔 , 4-12%	5 片 / 盒
	C53069	Glass Gel 预制胶 (Urea-TBE Page) , 10 孔 , 5%	10 片 / 盒

SDS PAGE

分类	编号	名称	规格
蛋白 Marker	PM1180	BiosPM™ 彩虹广谱蛋白 Marker(10-180KD)	100ul/250ul/10×250ul
	PM1180P	增强型彩虹广谱蛋白 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(10-180kDa)	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(10-270kDa)	100ul/250ul
	PME001	非预染可曝光蛋白 Marker	100ul/250ul/10×250ul
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	3×1L/10×1L/50×1L
	C1058	1×MOPS 速溶颗粒	3×1L/10×1L/50×1L
	C1069	快速电泳液 (10×,Tris-Gly)	500ml/500ml×5
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

电转印与显影

分类	编号	名称	规格
NC 膜	C55001	NC 膜 0.45μm(进口分装 ,Millipore,6.3×8.3cm)	20 张 /100 张
	C55002	NC 膜 0.45μm(进口分装 ,Millipore, 12.6×16.6cm)	5 张
	C55011	NC 膜 0.45μm(进口原装 ,Millipore,33cm×3m/ 卷)	1 卷 / 询价
	C55003	NC 膜 0.22μm(进口分装 ,Pall,6.3×8.3cm)	20 张 /100 张
	C55004	NC 膜 0.22μm(进口分装 ,Pall,12.6×16.6cm)	5 张
	C55012	NC 膜 0.22μm(进口原装 ,Pall,30cm×3m/ 卷)	1 卷 / 询价
PVDF 膜	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 / 询价
	C55008	PVDF 膜 0.2μm(进口分装 ,Millipore,6.6×8.5cm)	20 张 /100 张
	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 / 询价
转膜缓冲液	C05-05003	1× 转膜液粉剂	1L/10×1L/100×1L
	C05-05004	10× 转膜液粉剂	1L/1L×10/1L×100
	C5058	10× 转膜缓冲液	500ml
	C5046	快速转膜液	1L/5L
转膜效率检测	C-0072	丽春红 S	5g/10g
	C05-04002	10× 丽春红染色液	10ml/50ml/100ml
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/500g
	C1066	快速封闭液速溶颗粒 (TBST)	3×100ml/10×100ml/50×100ml
	C1068	无蛋白快速封闭液 (5×)	100ml/100ml×5
洗膜液	C-0086	吐温 20	100ml/500ml
	C1060	1×TBST 速溶颗粒	5×1L/10×1L/50×1L
	C5042	1×TBS 缓冲液 pH=7.4	500ml
	C5047	20×TBS 缓冲液 pH=7.4	500ml
	C5049	1×TBST 缓冲液 pH=7.4	500ml
	C5051	20×TBST 缓冲液 pH=7.4	500ml
	C05-07003	10×TBST 缓冲液 pH=7.4	60ml/500ml
膜再生	C05-03041	膜再生液	100ml/500ml
抗体稀释液	C05-07001	通用型 WB 抗体稀释液 (TBS)	100ml/500ml
	C01-02001	抗体保存液	30ml/100ml
	C01-04001	通用型抗体稀释液 (PBS)	30ml/100ml/500ml
	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
显影	C-0003	3,3- 二氨基联苯胺四盐酸盐水合物 (进口)	1g/5g
	D10294	3,3- 二氨基联苯胺 四盐酸盐水合物	1g
	S0339	AEC 显色试剂盒 (20×)	3×1ml/3×10ml
	C-0010	DAB 显色试剂盒 (20×)	0.5ml×2/1ml×2
	C05-07004	BiossECL 超敏发光液	12.5ml×2/50ml×2/250ml×2

产品信息以 Bioss 官网 www.biosschina.com 为准

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	10×电泳液； 10×电转液；10×TBST ；2× 上样缓冲液；预染蛋白 marker；NC 膜； BSA；脱脂奶粉；HRP标记的羊抗兔IgG；ECL 发光液
WB002	WB kit (抗小鼠一抗)	36T	10×电泳液； 10×电转液；10×TBST ；2× 上样缓冲液；预染蛋白 marker；NC 膜； BSA；脱脂奶粉；HRP标记的羊抗小鼠IgG；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过夜孵育
	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；或更换合适的封闭剂
	洗膜不充分	增加洗涤次数或时间
	膜不适合	NC 膜比 PVDF 膜背景底
	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	PVDF膜在使用前需要用无水甲醇活化
	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胨转移。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