

BeyoWB™ 30分钟Western检测试剂盒(兔一抗用)

产品编号	产品名称	包装
P0958S	BeyoWB™ 30分钟Western检测试剂盒(兔一抗用)	6-15次
P0958M	BeyoWB™ 30分钟Western检测试剂盒(兔一抗用)	30-75次

产品简介:

- 碧云天研发生产的BeyoWB™ 30分钟Western检测试剂盒(兔一抗用) (BeyoWB™ 30 min Western Assay Kit for Rabbit Primary Antibody), 也称兔一抗用超快速Western检测试剂盒(Superquick Western Assay Kit for Rabbit Primary Antibody), 是一种通常仅需30分钟就可以从完成转印的印迹膜到获得目的蛋白条带的超快速Western检测试剂盒。本试剂盒包含了BeyoWB™封闭液、BeyoWB™抗体稀释液、BeyoWB™ HRP标记山羊抗兔IgG(H+L)、BeyoWB™ Western洗涤液、BeyoWB™ BeyoECL A液和B液。本试剂盒使用便捷, 能够显著缩短封闭、一抗和二抗孵育等的时间, 试剂盒中包含从封闭到化学发光所需的所有溶液, 用户仅需自备一抗, 转膜完成后通常30分钟内就可以得到高质量的目的蛋白Western结果, 可以极大加快目的蛋白的检测速度。
- 本试剂盒特别适用于有使用相应一抗进行Western检测经验的情况, 此时使用原有的一抗配合本试剂盒通常就能在30分钟内实现从完成转印的印迹膜到获得预期的目的蛋白条带。经实测, 大多数情况下使用本试剂盒的效果优于原常规检测方法。使用本试剂盒的实际检测效果, 请参考图1。图中仅展示了部分检测结果, 实测对于更多的一抗, 本试剂盒在绝大多数情况下都具有相近或更优的检测效果。

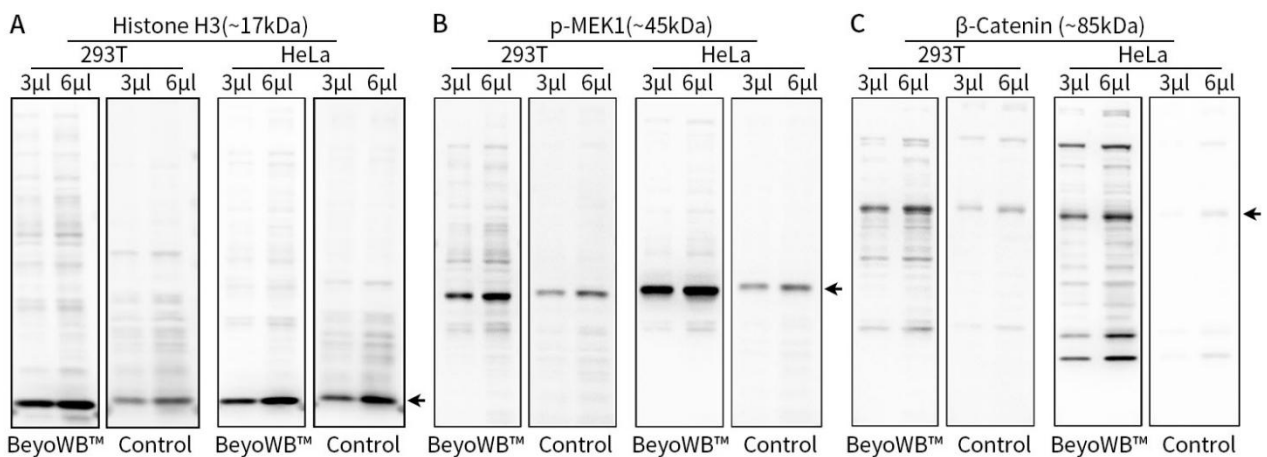


图1. 碧云天BeyoWB™ 30分钟Western检测试剂盒(兔一抗用) (P0958)与常规Western检测效果的比较图。图中BeyoWB™为使用本试剂盒的检测效果, 实验条件为: BeyoWB™封闭液封闭5分钟; BeyoWB™抗体稀释液稀释一抗(1:1000), 室温孵育15分钟, BeyoWB™洗涤液洗涤30秒3次; BeyoWB™抗体稀释液稀释本试剂盒提供的二抗(1:500), 室温孵育5分钟, BeyoWB™洗涤液洗涤30秒3次; 显影液为BeyoWB™ BeyoECL。Control为常规Western的检测效果, 实验条件为: QuickBlock™ Western封闭液(P0252)封闭10分钟; QuickBlock™ Western一抗稀释液(P0256)稀释一抗(1:1000), 室温孵育1小时, Western洗涤液洗涤5分钟3次; QuickBlock™ Western二抗稀释液(P0258)稀释二抗(1:1000), 室温孵育1小时, Western洗涤液洗涤5分钟3次; 显影液为BeyoECL Star (特超敏ECL化学发光试剂盒) (P0018A)。293T和HeLa细胞裂解液的蛋白浓度均为2mg/ml。所用一抗分别为: Histone H3 Rabbit Polyclonal Antibody (AF7104)、Phospho-MEK1 (Ser218/222) Rabbit Monoclonal Antibody (AF1786)和β-Catenin Mouse Monoclonal Antibody (AF0069); 对应的二抗分别为本试剂盒提供的BeyoWB™ HRP标记山羊抗兔IgG(H+L) (P0948)和BeyoWB™ HRP标记山羊抗小鼠IgG(H+L) (P0946)。Western印迹成像由BeyoImager™ 600化学发光成像系统(EI600)完成, 同组比较时的曝光时间相同, 箭头所示为目的蛋白。如图所示, 本试剂盒检测效果与常规Western相近甚至更优。对于本试剂盒和常规Western方法检测的上述印迹膜分别进行自动曝光时, 本试剂盒的效果也显著优于常规Western检测方法。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。

- Western, 也称Western blot, Western blotting, Western印迹, 常简称为WB, 是用抗体检测蛋白水平的重要方法之一[1]。常规Western检测从转膜后到获得蛋白条带通常需要3小时以上甚至过夜, 影响实验效率。而碧云天的BeyoWB™ 30分钟Western检测试剂盒(兔一抗用), 转膜后通常30分钟内就可获得目的蛋白条带, 大大节约了实验时间。
- 考虑到由于一抗试剂较为珍贵, 对室温孵育有顾虑的情况, 本试剂盒同样兼容一抗的4°C孵育, 从而确保一抗重复使用次数, 不同孵育时间对应的实际检测效果请参考图2。一抗4°C孵育时, 推荐孵育15-30分钟。

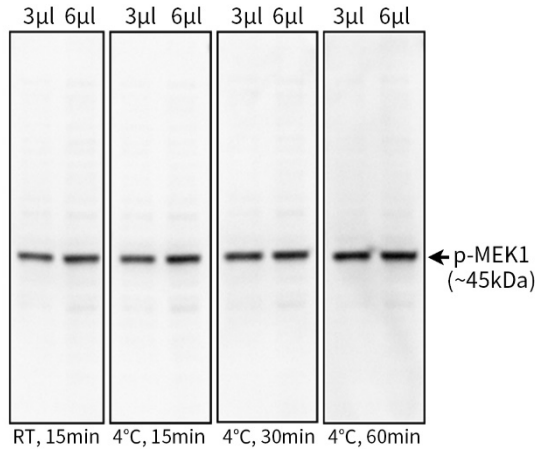


图2. 碧云天BeyoWB™ 30分钟Western检测试剂盒(兔一抗用) (P0958)一抗室温与4°C孵育的比较图。实验条件为: BeyoWB™封闭液封闭5分钟; BeyoWB™抗体稀释液稀释一抗(1:1000), 室温孵育15分钟/4°C孵育15分钟/4°C孵育30分钟/4°C孵育60分钟, BeyoWB™洗涤液洗涤30秒3次; BeyoWB™抗体稀释液稀释二抗(1:500), 室温孵育5分钟, BeyoWB™洗涤液洗涤30秒3次; 显影液为BeyoWB™ BeyoECL。所用样品为HeLa细胞裂解液, 蛋白浓度为2mg/ml。所用一抗为Phospho-MEK1 (Ser218/222) Rabbit Monoclonal Antibody (AF1786), 对应的二抗为BeyoWB™ HRP标记山羊抗兔IgG(H+L) (P0948)。Western印迹成像由BeyoImager™ 600化学发光成像系统(EI600)完成, 同组比较时的曝光时间相同, 箭头所示为目的蛋白。如图所示, 本试剂盒兼容一抗的4°C孵育, 一抗4°C孵育15-30分钟时, 检测效果与一抗室温孵育15分钟相近甚至可能更优。一抗4°C孵育时, 推荐孵育15-30分钟, 也可根据情况适当调整一抗孵育时间。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。

➤ 本试剂盒同样兼容二抗的4°C孵育, 实际检测效果请参考图3。二抗4°C孵育时, 推荐孵育5-10分钟。

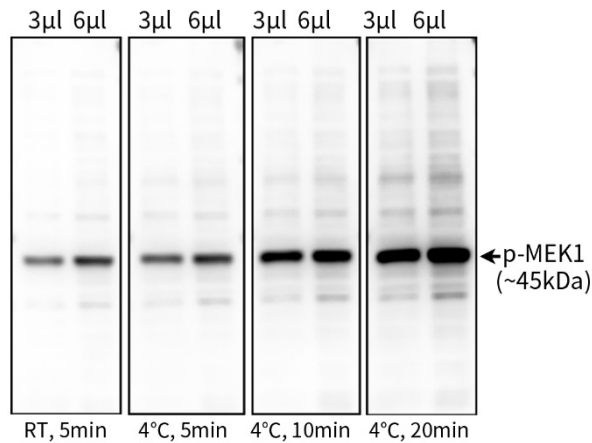


图3. 碧云天BeyoWB™ 30分钟Western检测试剂盒(兔一抗用) (P0958)二抗室温与4°C孵育的比较图。实验条件为: BeyoWB™封闭液封闭5分钟; BeyoWB™抗体稀释液稀释一抗(1:1000), 室温孵育15分钟, BeyoWB™洗涤液洗涤30秒3次; BeyoWB™抗体稀释液稀释二抗(1:500), 室温孵育5分钟/4°C孵育5分钟/4°C孵育10分钟/4°C孵育20分钟, BeyoWB™洗涤液洗涤30秒3次; 显影液为BeyoWB™ BeyoECL。所使用的样品为HeLa细胞裂解液, 蛋白浓度为2mg/ml。所用一抗为Phospho-MEK1 (Ser218/222) Rabbit Monoclonal Antibody (AF1786), 对应的二抗为BeyoWB™ HRP标记山羊抗兔IgG(H+L) (P0948)。Western印迹成像由BeyoImager™ 600化学发光成像系统(EI600)完成, 同组比较时的曝光时间相同, 箭头所示为目的蛋白。如图所示, 本试剂盒兼容二抗的4°C孵育, 二抗4°C孵育5-10分钟时, 检测效果与二抗室温孵育5分钟相近甚至可能更优。二抗4°C孵育时, 推荐孵育5-10分钟, 也可根据情况适当调整一抗孵育时间。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。

- 本试剂盒中的BeyoWB™封闭液封闭时间仅需5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。
- 本试剂盒中的BeyoWB™抗体稀释液针对Western进行了深度优化, 可同时用于一抗和二抗的稀释, 用其配制的一抗工作液孵育时间室温下仅需15分钟, 二抗工作液孵育时间室温下仅需5分钟。本产品稀释和配制的抗体工作液, 可以在4°C保存和使用不少于1个月, 并且可以重复使用。
- 本试剂盒中的BeyoWB™ Western洗涤液用于Western时一抗或二抗孵育后的洗涤, 每次洗涤时间仅需30秒即可达到理想效果, 降低背景, 增强信噪比。
- 本试剂盒中的BeyoWB™ BeyoECL化学发光试剂, 灵敏度极高、背景低、发光时间长, 成像效果极优。
- 本试剂盒提供从封闭到化学发光所需的HRP标记二抗、缓冲液、洗涤液和检测试剂, 用户仅需自备在常规Western中使用的一抗, 即可在30分钟内获得与常规Western检测相似或更优的目的条带。本系列产品还提供了不包含二抗的BeyoWB™ 30分钟Western检测试剂盒(P0001)和包含二抗的BeyoWB™ 30分钟Western检测试剂盒(小鼠一抗用) (P0956)。对于内参和标签蛋白, 推荐使用碧云天的一系列内参蛋白和标签蛋白的超快速Western检测试剂盒, 仅需10分钟就能实现从印迹膜到获得预期的目的条带。
- 如果需要从蛋白样品到WB目的条带的超快速方案, 碧云天还研发生产了BeyoWB™ 80分钟电泳转膜与Western检测试剂盒

(P0002), 电泳仅需25分钟、转膜仅需10分钟、从完成转印的膜到获得目的蛋白条带仅需30分钟, 总计通常不超过80分钟就能实现从蛋白样品到目的条带。该试剂盒中组分齐全, 用户仅需自备一抗、二抗、水、无水乙醇及电泳、转印和成像等常规设备即可。

- 如果检测的是6.6×8.5cm印迹膜, 按照每次封闭需要BeyoWB™封闭液5ml、稀释一抗和二抗的BeyoWB™抗体稀释液各5ml, 稀释后的一、二抗重复使用3次, 洗涤液每次使用10ml, BeyoWB™ BeyoECL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, 按照封闭以及一、二抗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
P0958S-1	BeyoWB™封闭液	30ml
P0958S-2	BeyoWB™ HRP标记山羊抗兔IgG(H+L)	20μl
P0958S-3	BeyoWB™抗体稀释液	20ml
P0958S-4	BeyoWB™ Western洗涤液	400ml
P0958S-5	BeyoWB™ BeyoECL A液	3ml
P0958S-6	BeyoWB™ BeyoECL B液	3ml
-	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
P0958M-1	BeyoWB™封闭液	150ml
P0958M-2	BeyoWB™ HRP标记山羊抗兔IgG(H+L)	100μl
P0958M-3	BeyoWB™抗体稀释液	100ml
P0958M-4	BeyoWB™ Western洗涤液	4×500ml
P0958M-5	BeyoWB™ BeyoECL A液	15ml
P0958M-6	BeyoWB™ BeyoECL B液	15ml
-	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存, 一年有效。4°C保存, 至少3个月有效。BeyoWB™ BeyoECL A液和B液须避光保存。

注意事项:

- 请注意回收使用过的一抗工作液和二抗工作液。回收的一、二抗工作液可以再重复使用2次。稀释后的一、二抗工作液, 包括使用过的一、二抗工作液, 请4°C保存。
- 回收后重复使用的一、二抗工作液, 使用方法同新鲜稀释的一、二抗工作液。如果在重复使用过程中发现一、二抗工作液出现轻微混浊现象, 可以10,000×g离心1-3分钟, 取上清用于后续检测。如果回收的一、二抗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, 室温孵育通常30分钟可得到高质量的目的蛋白Western结果, 即封闭5分钟、一抗孵育15分钟、洗涤30秒3次、二抗孵育5分钟、洗涤30秒3次、BeyoWB™ BeyoECL试剂孵育30秒、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(9.0×6.0×3.3cm) (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Western洗膜盒(5格, 14.5×9.8×3.5cm) (FFX055)进行洗涤和孵育。
- 如果需要更多的BeyoWB™ HRP标记山羊抗小鼠IgG(H+L)、BeyoWB™ HRP标记山羊抗兔IgG(H+L)、BeyoWB™封闭液、BeyoWB™抗体稀释液、BeyoWB™ Western洗涤液和BeyoWB™ BeyoECL, 可以单独向碧云天订购BeyoWB™ HRP标记山羊抗小鼠IgG(H+L) (P0946)、BeyoWB™ HRP标记山羊抗兔IgG(H+L) (P0948)、BeyoWB™封闭液(P0950)、BeyoWB™抗体稀释液(P0951)、BeyoWB™洗涤液(P0952)、BeyoWB™洗涤液(10X) (P0953)和BeyoWB™ BeyoECL (P0955)。
- 个别情况, 如果希望获得到更好的Western结果, 可适当增加封闭、一抗、二抗孵育及洗涤的时间, 并适当优化成像的曝光时间。
- BeyoWB™ BeyoECL A液和B液对人体有害, 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:

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 BeyoWB™封闭液**的Western洗膜盒(9.0×6.0×3.3cm) (FFX050)中, 置于翘板摇床上缓慢摇动, **室温封闭5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5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。

注2: 如果使用裁切后约2×8.5cm印迹膜, 推荐使用2ml BeyoWB™封闭液, 后续使用的各种试剂的体积也须相应按比例缩小。

2. 一抗孵育。

- 一抗工作液的配制。根据一抗推荐稀释比例或优化后进行常规Western检测使用的稀释比例进行一抗工作液的配制。例如一抗

推荐稀释比例为1:1000时，则在5ml BeyoWB™抗体稀释液中加入5μl一抗并混匀，即可得到5ml一抗工作液；如果推荐稀释比例为1:500，则在5ml BeyoWB™抗体稀释液中加入10μl一抗并混匀。

- b. 用微型台式真空泵、移液器或滴管等吸尽用于封闭的BeyoWB™封闭液。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)。
- c. 加入**5ml一抗工作液**。如果是裁切后的约2×8.5cm印迹膜，推荐用量为2ml。
- d. 置于翘板摇床上缓慢摇动，**室温孵育15分钟**。

注1: 经反复测试，室温孵育15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一抗孵育时间。

注2: 如需4℃孵育，推荐孵育时间为30分钟，或根据实际情况进行优化。

注3: 一抗孵育时，请参考步骤3a进行二抗工作液的配制。

- e. 回收一抗工作液，留待后续重复使用。并吸净残留的一抗工作液。
 - f. 使用BeyoWB™ 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。每次推荐使用真空泵吸净残留的洗涤液。
- 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每次酌情延长洗涤时间或增加洗涤次数。

3. 二抗孵育。

- a. 二抗工作液的配制。在5ml BeyoWB™抗体稀释液中加入10μl BeyoWB™ HRP标记山羊抗兔IgG(H+L)并混匀，即可得到5ml二抗工作液。
- b. 加入**5ml二抗工作液**。如果是裁切后的约2×8.5cm印迹膜，推荐用量为2ml。
- c. 置于翘板摇床上缓慢摇动，**室温孵育5分钟**。

注1: 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。

注2: 如需4℃孵育，推荐孵育时间为5-10分钟，或根据实际情况进行优化。

- d. 回收二抗工作液，留待后续重复使用。并吸净残留的二抗工作液。
- e. 使用BeyoWB™ 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。每次推荐使用真空泵吸净残留的洗涤液。

4. 蛋白检测。

- a. BeyoWB™ BeyoECL工作液的配制。混合0.5ml BeyoWB™ BeyoECL A液和0.5ml BeyoWB™ BeyoECL B液，配制成1ml BeyoWB™ BeyoECL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，BeyoWB™ BeyoECL工作液配制0.4ml即可。
 - b. 用WB专用镊子(12cm, 翘方头) (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 BeyoWB™ BeyoECL工作液到膜上**，确保使工作液均匀覆盖在膜上，**放置30秒**。如果是裁切后的约2×8.5cm印迹膜，BeyoWB™ BeyoECL工作液的推荐用量为0.4ml。
- 注: 通常放置30秒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。
- d. 取膜，弃BeyoWB™ BeyoECL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。

5. (选做)一抗二抗的去除与内参蛋白的检测。

推荐使用碧云天的Western一抗二抗去除液(中性) (P0025N)去除一抗和二抗用于后续其它目的蛋白的检测。如果希望进行内参蛋白的检测，推荐使用碧云天的Actin超快速Western检测试剂盒(P0970)、GAPDH超快速Western检测试剂盒(P0971)和Tubulin超快速Western检测试剂盒(P0972)，仅需10分钟就可以实现从膜到目的条带。

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. Begum H, Murugesan P, Tangutur AD. Biotechniques. 2022. 73(1): 58-69.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
P0001	BeyoWB™ 30分钟Western检测试剂盒	6-15次/30-75次
P0002	BeyoWB™ 80分钟电转膜与Western检测试剂盒	6-15次/30-75次
P0946	BeyoWB™ HRP标记山羊抗小鼠IgG(H+L)	200μl/1ml
P0948	BeyoWB™ HRP标记山羊抗兔IgG(H+L)	200μl/1ml
P0950	BeyoWB™封闭液	100ml/500ml
P0951	BeyoWB™抗体稀释液	100ml/500ml
P0952-500ml	BeyoWB™洗涤液	500ml
P0953-100ml	BeyoWB™洗涤液(10X)	100ml
P0955	BeyoWB™ BeyoECL	100ml/500ml
P0956	BeyoWB™ 30分钟Western检测试剂盒(小鼠一抗用)	6-15次/30-75次
P0958	BeyoWB™ 30分钟Western检测试剂盒(兔一抗用)	6-15次/30-75次

P0963	BeyoWB™ SDS-PAGE上样缓冲液(5X, 无气味)	2ml/15ml
P0965	BeyoWB™ PVDF膜(6.6×8.5cm, 0.45μm)	20张/100张
P0966	BeyoWB™转膜海绵垫(免滤纸)	20片/100片
P0967	BeyoWB™ SDS-PAGE电泳液(Tris-Gly, 20X)	100ml/500ml
P0968	BeyoWB™转膜液(10X)	500ml/4×500ml
P0970	Actin超快速Western检测试剂盒	6-15次/30-75次
P0971	GAPDH超快速Western检测试剂盒	6-15次/30-75次
P0972	Tubulin超快速Western检测试剂盒	6-15次/30-75次
P0981	Flag标签蛋白超快速Western检测试剂盒	6-15次/30-75次
P0982	HA标签蛋白超快速Western检测试剂盒	6-15次/30-75次
P0983	Myc标签蛋白超快速Western检测试剂盒	6-15次/30-75次
P0984	His标签蛋白超快速Western检测试剂盒	6-15次/30-75次
P0985S	His标签蛋白(C-Terminal)超快速Western检测试剂盒	6-15次
P0986	GFP标签蛋白超快速Western检测试剂盒	6-15次/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
P0025N	Western一抗二抗去除液(中性)	250ml

Version 2025.02.16