

GAPDH超快速Western检测试剂盒

产品编号	产品名称	包装
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

产品简介:

- 碧云天研发生产的GAPDH超快速Western检测试剂盒(Superquick Western Assay Kit for GAPDH), 是一种仅需10分钟就可以从完成转印的印迹膜到获得内参蛋白GAPDH条带的超快速Western检测试剂盒。本试剂盒包含了Anti-GAPDH-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内参蛋白Western结果, 可以极大加快内参蛋白的检测速度。
- 本试剂盒可以兼容检测人、小鼠、大鼠等的GAPDH。
- 内参是在各种组织和细胞中都组成性表达的蛋白, 并且表达水平相对恒定, 很少受外部诱导物的影响, 因此被广泛用作Western蛋白质上样量是否一致的参照(Loading control)。但不同细胞、组织及不同条件甚至不同的蛋白上样量, 对内参蛋白的检测会有一些影响, 所以建议进行一种或多种内参蛋白的检测[1-4]。
- 本系列产品目前包括Actin/GAPDH/Tubulin超快速Western检测试剂盒(P0970/P0971/P0972)。
- 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内参抗体工作液, 可以在4°C保存和使用不少于1个月, 并且可以重复使用。
- 本试剂盒使用了Anti-GAPDH-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GAPDH条带的效果, 请参见图1。

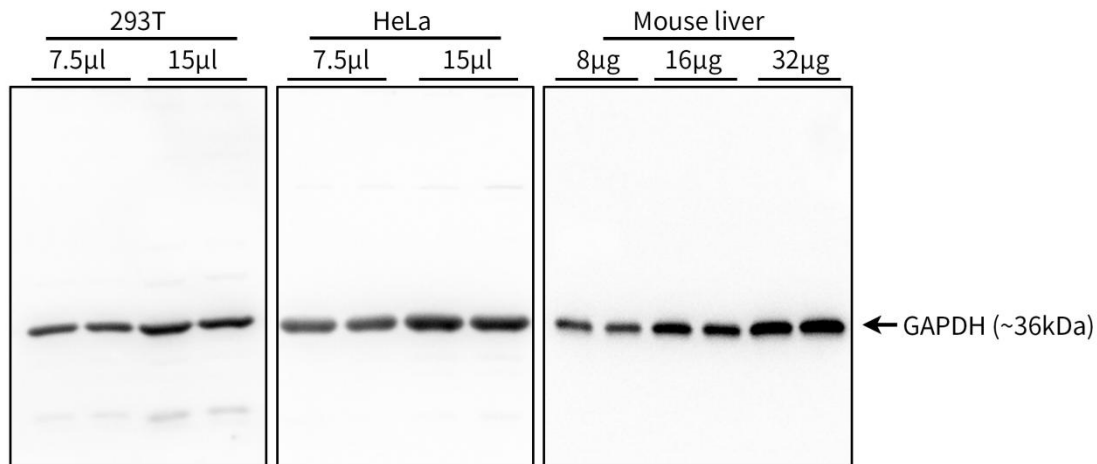


图1. 碧云天GAPDH超快速Western检测试剂盒(P0971)的检测效果图。其中293T细胞裂解液蛋白浓度为2.7mg/ml, HeLa细胞裂解液蛋白浓度为2.5mg/ml。QuickBlock™封闭和抗体稀释液封闭1分钟, 抗体稀释比例为1:500, 抗体孵育5分钟。Western印迹成像由BeyoImager™ 600化学发光成像系统(EI600)完成。曝光时间: 293T和HeLa样品为10秒, 小鼠肝脏组织为4秒。GAPDH的分子量约36kDa。根据灰度分析, 各蛋白裂解液样品的GAPDH条带灰度与上样量成相应的比例关系。实际实验结果会因样品、抗体、实验条件等的不同而存在差异, 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GAPDH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
P0971S-1	Anti-GAPDH-HRP	20 μ l
P0971S-2	QuickBlock™封闭和抗体稀释液	40ml
P0971S-3	Western洗涤液	200ml
P0971S-4	BeyoECL Star A液	3ml
P0971S-5	BeyoECL Star B液	3ml
-	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
P0971M-1	Anti-GAPDH-HRP	100 μ l
P0971M-2	QuickBlock™封闭和抗体稀释液	200ml
P0971M-3	Western洗涤液	2×500ml
P0971M-4	BeyoECL Star A液	15ml
P0971M-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:

- 本产品可用于人、小鼠、大鼠的GAPDH的检测, 其它种属建议先进行预实验。
- 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内参蛋白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-GAPDH-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10 μ l Anti-GAPDH-HRP, 即可得到5ml Anti-GAPDH-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-GAPDH-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每次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。
- 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。
- 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)。
- 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：

- Taylor S. C, Berkelman T, Yadav G, Hammond M. Mol. Biotechnol. 2013. 55, 217–226.
- Lee, Hyun-Gwan, et al. Proteomics. 2016. 16(13): 1863-1867.
- Ferguson R E, Carroll H P, Harris A, et al. Proteomics. 2005. 5(2): 566-571.
- Chen W, Xu W H. Electrophoresis. 2015. 36(17): 2046-2049.

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 2024.06.24