

实验步骤: WB

材料/试剂/缓冲液

1. Trident 2X Tris Glycine SDS Sample Buffer (GTX16352)
2. Trident 10X Tris-Glycine-SDS Running Buffer (GTX16338)
3. Trident 10X Tris Glycine Transfer Buffer (GTX16346)
4. 硝酸纤维膜(nitrocellulose filter membrane, NC)或聚偏二氟乙烯膜(polyvinylidene fluoride, PVDF)
5. Trident plus Western HRP Substrate (GTX400006)
6. Trident 10X PBST (GTX30977)
7. Trident Universal Protein Blocking Reagent (animal serum free)(GTX30963)
8. Trident Prestained Protein Ladder (High Range)(GTX50875)

仪器

电泳仪

电子转印仪

实验步骤

I 准备蛋白萃取液

1. 将蛋白萃取液溶于sample buffer (GTX16352)并用100°C煮5分钟使蛋白变性
注意: 必要时加入还原剂如Dithiothreitol (DDT)或2-Mercaptoethanol (2-ME)还原蛋白

II SDS-PAGE和胶体转膜

1. 将样品加入SDS-PAGE的泳道;取适当量Trident Prestained Protein Ladder加入泳道
2. 将胶体置于Running Buffer(GTX16338)内,以50-100V电压跑胶1-2小时
3. 在Transfer Buffer(GTX16346)中,将蛋白从胶体转印到NC膜或以甲醇(methanol)润湿过的PVDF膜

III 封闭,抗体孵育,洗脱

1. 封闭:将转印膜放在3%脱脂牛奶/PBST或Universal Protein Blocking Reagent (animal serum free)(GTX30963)中于室温孵育30-60min.
2. 一抗孵育:将一抗放于1%脱脂牛奶/PBST或Universal Protein Blocking Reagent中与转印膜作用,室温孵育2小时或是4°C过夜
3. 洗脱:以1X PBS洗脱转印膜10分钟一次,接着洗脱2次,每次5分钟
4. 二抗孵育:将HRP标记二抗加入1%脱脂牛奶/PBST或Universal Protein Blocking Reagent中,与转印膜作用,室温孵育1小时
5. 洗脱:以1X PBS洗脱转印膜3次,每次10分钟

IV ECL信号侦测

1. 依Trident plus Western HRP Substrate(GTX400006)说明书侦测信号



GeneTex 简介

ABOUT

GeneTex 背景

1997年GeneTex由一群科学家成立于美国德克萨斯州，为抗体制造商，成立宗旨“专注生物相关试剂生产，加速科学研究与发展，在每一个产品里你将看到我们对质量的要求与坚持”。

成立之初，科学家致力于寻找引发癌症的分子新靶点，并开发抗体供科研使用。之后，GeneTex专注抗体开发，网罗世界各地人才，至今已开发出50,000个产品，产品线横跨癌症、病毒、遗传学、神经学、免疫学、细胞分子传递、干细胞研究、斑马鱼等多个领域，并提供完善的定制抗体制备服务。

GeneTex 承诺

在我们制造产品时，坚持我们的理念与方法，通过研究、开发与严格的测试提供最可信的试剂给研究人员，并驱动生命科学的发展。我们将持续开发多元的抗体产品，提供科学家探索有限生物医药知识所使用。

GeneTex 联系

任何跟产品相关的问题，我们技术与销售团队将竭诚为您服务；GeneTex支持中英文等多种语言并建构全球经销商网络，任何问题，您可以使用习惯的语言与我们联系。

