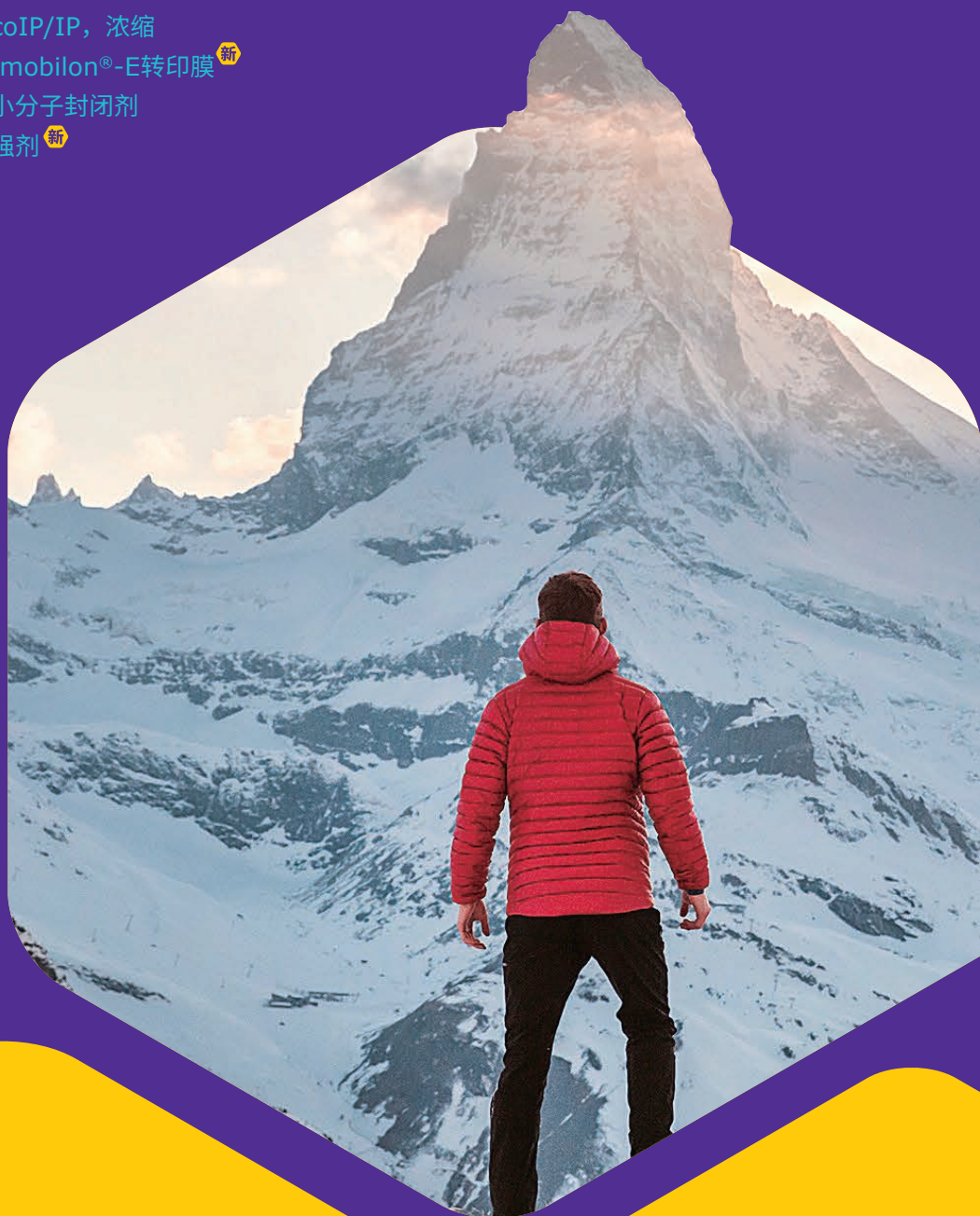


低丰度蛋白检测

Western Blot成功率大幅度提升的秘籍

- **样品制备：**低丰度蛋白富集，coIP/IP，浓缩
- **转印与封闭：**即用型PVDF Immobilon®-E转印膜^新
高载量转印膜，小分子封闭剂
- **检测：**优质抗体，免疫信号增强剂^新
- **显色：**超敏HRP底物^新
- **再杂交：**温和抗体剥离



好奇心永驻

预见
下一个350年

默克生命科学Millipore为你提供的特色Western Blot工具
步步稳健，好的数据尽在掌握

制备优质的蛋白样品是Western Blot成功的起点，特别是对于低丰度目的蛋白。裂解细胞/组织时防止蛋白降解，从复杂的样品进行分离和精制（比如分部富集/去除高丰度蛋白，coIP/IP）等策略，都是保障有足够目的蛋白进入下一步的关键。最后，对样品进行有效的浓缩和缓冲液置换，也为样品制备环节加分。

裂解 抽提

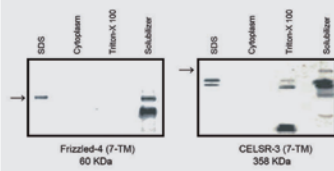
- RIPA试剂温和有效地进行细胞/组织裂解
- 蛋白酶抑制剂混合物：防止蛋白降解，提高实验的成功率和数据可比性



Amicon® Pro 纯化浓缩管
一步法完成蛋白浓缩与缓冲液置换，
获得更大蛋白得率，提高数据重现性

分部 富集

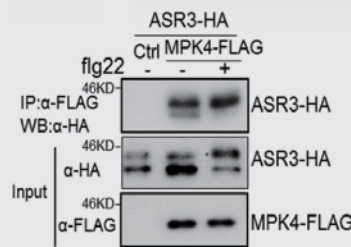
- 蛋白富集试剂盒：包括（跨）膜蛋白、核蛋白、4种亚细胞组分、线粒体、高尔基体、溶酶体、内质网、过氧化物酶体等。使目标蛋白所在组分获得富集，也便于蛋白定位及分布变化的探讨
- 高丰度蛋白去除试剂盒：去除血清/血浆/脑脊液等中的白蛋白、IgG等，提高低丰度的蛋白表现度



跨膜蛋白富集

coIP/IP

- 预包被BSA的Protein A / G 琼脂糖珠，配合Amicon® Pro纯化浓缩管进行离心操作，琼脂糖珠也能获得信噪比好的结果
- IP 磁珠（有 Protein A/G、FLAG®、HA、c-Myc、GST、His、生物素等），配合可拆卸8孔磁力架使用——磁珠法已经逐渐成为IP的主流方法
- 完整的 IP 试剂盒品种包括 FLAG®, c-myc, HA, GST 等



FLAG®/HA标签蛋白的IP
及WB检测

浓缩 / 换液

- Amicon® Ultra 超滤管：有0.5/2/4/15mL体积、3/10/30/50/100kDa截留分子量等规格可供选择。是对蛋白进行脱盐、缓冲液置换和浓缩操作的最佳工具



0.5/2/4/15mL



磁珠和磁力架

目录号	产品描述	注释
20-188	RIPA Lysis buffer 10 X 100mL	RIPA 裂解液
71772-3*	ProteoExtract® Transmembrane extraction kit	跨膜蛋白抽提试剂盒
71456-3	BugBuster® Master Mix reagent (提供中文说明书)	替代超声波处理的大肠杆菌抽提试剂
122642*	ProteoExtract® Albumin/IgG remove kit	高丰度蛋白去除试剂盒
539134-1 set	Protease Inhibitor Cocktail set	蛋白酶抑制剂混合物
524625-1 set	Phosphatase Inhibitor Cocktail Set II	磷酸酶抑制剂混合物
P8340-5mL	Protease Inhibitor Cocktail, mammalian cell/tissue extracts, DMSO solution	蛋白酶抑制剂混合物
P9599-5mL	Protease Inhibitor Cocktail, plant cell/tissue extracts, DMSO solution	植物材料蛋白酶抑制剂混合物
4693132001	cOmplete, EDTA-free Protease Inhibitor Cocktail Tablets provided in EASYpacks	蛋白酶抑制剂混合物
4906837001	PhosSTOP, 20 Tablets	磷酸酶抑制剂混合物
IP05-1.5mL	Protein G Plus/Protein A Agarose	预包被 IP 琼脂糖珠
ACS500024*	Amicon® Pro 24 Pack (AU0.5 超滤管请自备) (提供中文说明书)	离心式纯化浓缩管
M8823-1mL	Anti-FLAG® M2 Magnetic Beads	FLAG 标签蛋白纯化磁珠
F4799-4mg	3X FLAG® Peptide lyophilized powder	FLAG 标签蛋白洗脱液
LSKMAGAG02	PureProteome® ProteinA/G Mag Beads Mix	Protein A/G 磁珠
LSKMAGS08*	PureProteome® Magnetic Stand, 8 well	8 孔磁力架
FLAGIPT1*	FLAG® Immunoprecipitation Kit	FLAG 标签蛋白 IP 试剂盒

经电泳分离的蛋白需要转印到膜材质表面，以便后续抗体能与目的蛋白结合、检测。转印膜要求柔韧易裁剪，耐化学试剂处理，可以长期保存，当然其中最重要的特性是蛋白载量高，以尽可能提高低丰度的蛋白的检测成功率。相对于NC膜，PVDF性能优越，是公认的WB专用转印膜。在膜上没有蛋白样品的区域，必须用合适的试剂进行封闭，以减少抗体结合到膜上形成高背景。与蛋白类封闭剂（如脱脂奶或BSA）相比，新型化学小分子封闭剂因不会与蛋白发生作用，在WB检测中表现更稳定、效果也更好。

电泳

转印

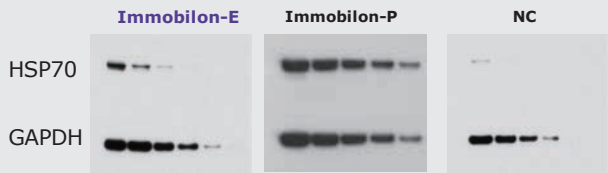
封闭

抗体
孵育

全新上市

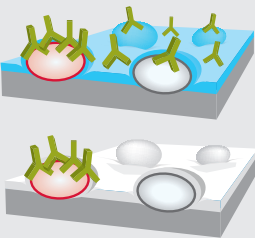
- **Immobilon®-E即用型PVDF转印膜：**
是Millipore革命性创新工艺制作的转印膜，为唯一的不需毒性大的高浓度甲醇预润操作，而直接浸润于水性转印缓冲液的PVDF膜
- **Immobilon®-P^{SQ}转印膜：**这种PVDF膜孔径为0.2μm，厚度近200μm。由于具有较小的膜孔，其膜内表面积约为其它膜的3倍，蛋白载量更大，对小分子蛋白结合能力也更强，对于低丰度蛋白检测非常有利

“E”意为环境友好型,有利健康
不需要甲醇预润湿的即用型
PVDF 转印膜



	Immobilon®-P	Immobilon®-P ^{SQ}
最适应用	最常用的免疫印迹膜 氨基酸分析	小分子蛋白(<20kDa),裂解液或难度较大的低丰度蛋白检测及氨基酸测序
成分	PVDF	PVDF
亲水性	疏水	疏水
孔径	0.45 μm	0.2 μm
检测方法	化学发光，显色，放射	化学发光
蛋白结合量	胰岛素：160 μg/cm ² BSA：215 μg/cm ² 山羊IgG：294 μg/cm ²	胰岛素：262 μg/cm ² BSA：340 μg/cm ² 山羊IgG：448 μg/cm ²

- **Bløk®-CH小分子封闭剂：**
小分子封闭剂在膜表面形成更薄而均匀的覆盖，与抗体/抗原蛋白不会发生结合，信噪比极佳，有利于低丰度蛋白的检出，并可一定程度节约宝贵的抗体
- **默克优质抗体：**
汇集Sigma，Calbiochem，Chemicon，Upstates等子品牌，超过90000种高品质抗体，覆盖肿瘤，表观，神经，信号转导，免疫，代谢等多个研究领域



牛奶在膜上形成厚厚的一层蛋白，与抗体的非特异性结合导致整体高背景（上）。Bløk®封闭剂仅在膜上形成很薄的一层化学分子层，不会与抗体结合（下），背景较低。



目录号	产品描述	注释
IEVH00005*	Immobilon®-E transient hydrophilic PVDF, 26.5 cm x 1.875 m, 0.45μm (提供中文说明书)	即用型 PVDF 转印膜
ISEQ00005*	Immobilon®-P ^{SQ} , 26.5cm x 1.875m, 0.2μm	小分子蛋白专用转印膜
WBAVDCH01	blok® - CH Chemiluminescent Blocker 500mL	小分子封闭剂

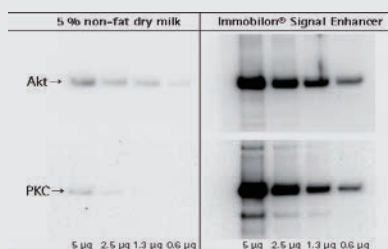
低丰度蛋白检测不到结果是最大的问题。除了前两大步骤中确保目的蛋白被成功地抽提/富集/转印、选用最好的抗体以外，在数据获取阶段也有办法进一步提高检出成功率，包括增强信号以及采用最高灵敏度的HRP底物。最后，如果要在一张膜样品上做多个WB数据，可以先做低丰度蛋白的检测，然后用剥离试剂去除信号继而做高丰度蛋白的检测。

增强信号

全新上市

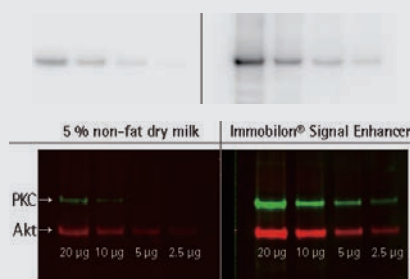
• Immobilon® enhancer 免疫信号增强试剂:

- ✓ 可以直接作为封闭剂和一抗及二抗的稀释液，背景干净，数据稳定
- ✓ 信号增强2-10倍以上
- ✓ 用于化学发光及荧光检测
- ✓ 非低丰度蛋白检测时也可以用于节约抗体用量
- ✓ 预染marker上样量可以减少50-70%



化学发光检测

一抗稀释倍数1:5000(左)和1:50000 (右, IE)



荧光检测

显色

全新上市

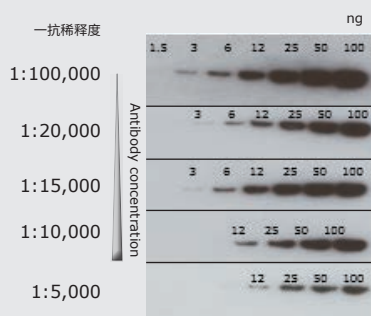
• Immobilon® ECL Ultra 超敏 HRP

底物: 是 Millipore HRP 底物系列中灵敏度最高的, 仅建议用于目的蛋白丰度极低的困难情况

• Luminata™ Forte 即用型 HRP

底物: 为单瓶即用型, 常温存放。与其它常见底物相比, 由于灵敏度超高, 一抗建议稀释 5 倍, 二抗建议稀释 2-5 倍

- 采用 Millipore 其它灵敏度级别的 HRP 底物, 结合 Immobilon® Enhancer 增强试剂使用, 可以满足日常检测所需



Immobilon® ECL Ultra

Immobilon® Western HRP

Luminata™ Forte

Luminata™ Crescendo

Luminata™ Classico

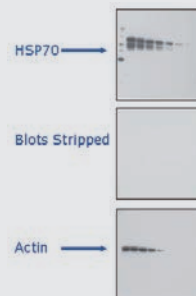
两瓶装
用时混合

单瓶预混
即用型

再杂交

• ReBlot™ 剥离试剂:

常温下处理 15 分钟, 配方中没有难闻的 β -巯基乙醇, 也无需加热, 方便好用, 效果令人满意



目录号

产品描述

注释

WBSH0500*	Immobilon® Signal Enhancer (提供中文说明书)	信号增强试剂
WBULS0100*	Immobilon® ECL HRP Substrate - 100mL (提供中文说明书)	超敏 HRP 底物
WBLUF0100	Luminata™ Forte Western HRP Substrate	超敏单瓶装预混底物
2500	ReBlot™ Plus Western Blot Recycling Kit	抗体剥离试剂盒
2502	Mild Antibody Stripping Solution (10x)	温和型抗体剥离试剂
2504	Strong Antibody Stripping Solution (10x)	加强型抗体剥离试剂

- 活动期间订购本手册内带有*号的产品, 扫描微信登记即可获得精美礼品
- 以上仅为部分产品举例, 更多相关产品请致电400-889-1988-2分机咨询

优质抗体的选择 是低丰度蛋白检测的关键



低丰度蛋白检测经常让许多WB老手遭遇滑铁卢，白板、高背景、条带弱、杂带多等问题限制了实验的进度。对于低丰度蛋白的检测，抗体的优选是WB实验非常关键的一环。选择的抗体最好具备以下特质：

- 经过内部实验验证
- 高文献引用率，行业内科研者的验证和认可
- 高亲和性
- 高特异性

默克是抗体的生产者，秉承了旗下Sigma, Chemicon, Upstate, Lincon, Calbiochem等子品牌三十多年的抗体研发和生产经验，一直致力于为用户提供最优质的抗体。

- 默克提供的抗体全部经过内部WB实验验证。
- 90%以上抗体经过亲和纯化，具有高亲和性和高特异性的特点。
- 许多抗体的文献引用率名列前茅，尤其是在表观、神经、信号转导等领域，默克抗体被作为“金标准”使用。

高文献引用率抗体列表

研究领域	货号	产品描述	反应种属	实验应用	文献引用率
肿瘤及信号转导	L7543-100UL	Anti-LC3B antibody produced in rabbit	人;小鼠;大鼠	indirect IF, WB	文献使用率名列前茅, 自噬研究热门靶标
	P0067-200UL	Anti-p62/SQSTM1 antibody produced in rabbit	人;小鼠;大鼠	indirect IF, IP, WB	高文献引用率, 自噬研究热门靶标
	A2856-200UL	Anti-ATG7 antibody produced in rabbit	人;小鼠;大鼠	IHC (formalin, P), IP, WB	高文献引用率, 自噬研究热门靶标
	B2531-100UL	Anti Brdu Antibody - Monoclonal	反应种属广泛	IHC (formalin-fixed, paraffin-embedded sections)	文献使用率名列前茅, 细胞增殖研究热门靶标
	C8487-200UL	Anti-BrdU antibody produced in mouse	人;小鼠;大鼠	IF, WB, microarray	高性价比抗体, 细胞凋亡研究热门靶标
	SAB4500003-100UG	Anti-Caspase 3 antibody produced in rabbit	牛;小鼠;大鼠;狗;猪;人	Elisa, IF, IHC, WB	高性价比抗体, 细胞凋亡研究热门靶标
	P6749-200UL	Anti-BCL-2 antibody produced in rabbit	人;小鼠;大鼠	Elisa, IF, IHC, WB	高性价比抗体, 细胞凋亡研究热门靶标
表观遗传学	MAB1510	Monoclonal Anti-p53 antibody produced in mouse	人	IHC, IP, Elisa, WB	高性价比抗体, 肿瘤研究热门靶标
	05-321	anti-phosphotyrosine, clone 4G10 100ug	所有	ICC; IHC; IP; WB	文献使用率名列前茅, 磷酸化检测“金标抗体”
	MAB1510	UBIQUITIN, MS X-100UL	人;小鼠;大鼠	IHC(P); IP; WB	文献使用率名列前茅, 泛素化检测畅销抗体
	07-449	A-TRIMETHYL-HIST (LYS27) H3 200UG	人;小鼠	ICC; IP; Multiplexing; WB; ChIP-seq	上千篇文献引用率, 表观遗传学研究热门靶标
	06-599	Anti-acetylated Histone H3	人;小鼠;大鼠	WB; ICC; ChIP-seq; ChIP	文献使用率名列前茅, 组蛋白 H3乙酰化抗体
	06-570	ANTI-PHISTON H3 MITOSIS MKR 200UG	小鼠;人	ICC; IP; WB	文献使用率名列前茅, 组蛋白 H3磷酸化抗体
	06-866	ANTI-ACEL HIST H4, CHIPS GRD200UL	人;四膜虫;真核生物	WB; ICC; ChIP	文献使用率名列前茅, 组蛋白 H4乙酰化抗体
	07-360	A-ACET-HIST H3(K27) 100UL	人;脊椎动物;酵母	WB; ChIP-seq; ChIP; Dot Blot	文献使用率名列前茅, 组蛋白 H3乙酰化抗体
	07-030	ANTI-DIMETHYL-HIST H3	人;四膜虫	Dot Blot; ICC; IF; WB; Peptide Inhibition Assay; ChIP-seq; ChIP	文献使用率名列前茅, 组蛋白 H3二甲基化抗体
	07-329	A-ACET-HIST H4(K16) 100UL	人;脊椎动物;酵母	WB; Multiplexing; Peptide Inhibition Assay; Dot Blot; ChIP-seq; ChIP	文献使用率名列前茅, 组蛋白 H4乙酰化抗体
神经生物学	07-327	A-ACET-HIST H4(K5), CHIP GRD 100UL	人	WB; Dot Blot; ICC; ChIP-seq; ChIP	文献使用率名列前茅, 组蛋白 H4乙酰化抗体
	MAB377	NEURONAL SPEC NUC PROT, MS X-500UG	鸟类;鸡;雪貂;人;小鼠;猪;大鼠;火蜥蜴	FC; ICC; IF; IHC; IHC(P); IP; WB	文献引用率超过2000篇, 神经研究“金标抗体”
	MAB5406	GAD 67, MSX-100UG	人;大鼠;小鼠	IHC; IHC(P); WB	文献使用率名列前茅, 神经研究热门靶标
	AB5603	SOX-2, RBX-100UG	人;小鼠	ICC; WB	文献使用率名列前茅, 神经干细胞标志物
	MAB1637	TUBULIN (BETA III), MS X-100UL	鸟类;牛;人;小鼠;猴子;猪;大鼠;羊	ELISA; ICC; IHC; IHC(P); IP; WB	文献使用率名列前茅, 神经元鉴定靶标
	MAB345	OLIGODENDROCYTE O4, MS X-50UG R	鸡;人;小鼠;大鼠	ICC; IHC	文献使用率名列前茅, 少突胶质细胞标志物
	AB144P	CHAT, GT X, AP-500UL	人;大鼠;小鼠;猴子;负鼠;鸟类;鸡;豚鼠;斑马鱼	IHC(P); ICC; IHC; WB	文献使用率名列前茅, 胆碱能神经元标志物
二抗, 标签及看家基因抗体	MAB3420	TAU-1, MSX-100UG (R)	牛;人;大鼠	IHC; WB	文献使用率名列前茅, 神经元标志物
	MAB397	GLUR2, MS X-100UG	小鼠;大鼠;猴子;犬	ELISA; ICC; IHC; IP; RIA; WB	文献使用率名列前茅, 神经元标志物
	MAB353	NESTIN, MSX-100UG	小鼠;大鼠	ICC; IHC; IHC(P); WB	文献使用率名列前茅, 神经干细胞标志物
	A9044-2ML	ANTI-MOUSE IGG (WHOLE MOLECULE) & A0168-1ML	小鼠	Elisa, IHC, WB	高性价比二抗, 稀释度高达1: 160000
	A0168-1ML	ANTI-MOUSE IGG (FC FRAGMENT) PEROXIDASE	小鼠	Elisa, ICC, IHC, WB	高性价比二抗, 稀释度高达1: 160000
	A0545-1ML	ANTI-RABBIT IGG (WHOLE MOLECULE) & I2136-1ML	兔	Elisa, IHC, WB	高性价比二抗, 稀释度高达1: 160000
	I2136-1ML	ANTI-HUMAN IGG (FC SPECIFIC) DEVELOPED &	人	Elisa	高性价比二抗, 稀释度高达1: 10000
	MAB3580	GREEN FLUOR PROT (GFP), MSX-100UL	所有	ELISA; ICC; IHC; WB	超高性价比标签抗体
	05-724	ANTI-MYC TAG, CL 4A6 200UG	人	ICC; IF; IP; WB; ChIP-seq	超高性价比标签抗体
	05-949	Anti-His Tag, clone HIS.H8 200ug	所有	ICC; IP; WB	超高性价比标签抗体
二抗, 标签及看家基因抗体	MAB374	Anti-GAPDH Antibody, clone 6C5	犬;人;小鼠;大鼠;兔子;鱼;猫;猪	ELISA; IP; ICC; IF; IHC; WB	文献使用率名列前茅, 热门看家基因
	A5441-2ML	Monoclonal Anti-beta-Actin antibody produced in mouse	犬;豚鼠;医用水蛭;猫;猪;小鼠;鲤鱼;鸡;羊;兔;大鼠;人;牛	WB, IP, IF(I), IHC	文献使用率名列前茅, 热门看家基因
	T4026-2ml	Monoclonal Anti-β-Tubulin antibody produced in mouse	鸡;人;植物;青蛙;小麦;兔子;牛;仓鼠;蛾;小鼠;海胆;大鼠	WB, indirect IF	文献使用率名列前茅, 热门看家基因

数据来自CiteAb网站

Tips:

在选择低丰度蛋白抗体时，如果无法通过文献、验证数据等指标确定抗体是否适合实验，可先选择小包装抗体进行预实验。



默克精选上百种小包装抗体，25UL/UG包装，现货速达。即日起至6月30日，凡购买小包装抗体，即可获赠“便携式充电宝”。活动详情可咨询当地默克销售或代理商，也可拨打技术热线4008891988转2号线。

Western Blot

提高成功率 挑战不可能

订购方式

请继续从您原有的正规Merck生命科学产品订购渠道购买；如是新用户，欢迎联系默克当地销售员或垂询400-889-1988-2分机。

行业领先的技术支持服务

默克生命科学拥有一支熟悉产品、经验丰富的技术支持专家团队，随时为您从方案设计、产品操作以及实验优化等多方面提供专业的咨询服务。垂询电话400-889-1988-2分机。

在众多Merck生命科学蛋白研究完整解决方案高品质产品中，低丰度WB检测解决方案是富有特色一个产品系列。为了获得稳定、满意的Western Blot检测效果，欢迎您关注：

- www.SigmaAldrich.com/westernblot
- www.SigmaAldrich.com/westernhelp



定制
礼品



活动期内凡订购本产品宣传页标注★号产品可扫描以下二维码，完成注册并回口令“低丰度检测”，即可获得精美实用的“蛋白印迹技术宝典”一本。订购新上市Immobilon®-E即用型PVDF转印膜更将获得“首批中国使用者”专享定制礼品。

活动时间 2018年4月1日-6月30日



上海徐汇办公室
上海市淮海中路1010号
嘉华中心41层
电话: (021)61415566
传真: (021)61415567
邮编: 200031

上海张江办公室
上海市浦东新区张江高科
晨晖路88号2号楼2楼
电话: (021)20338288
传真: (021)50803042
邮编: 201203

北京
北京市朝阳区将台路甲2号
诺金中心25层
电话: (010)59072688
传真: (010)59072699
邮编: 100016

广州
广州市天河区冼村路5号
凯华国际中心1201-1204
电话: (020)32255333
传真: (020)32255380
邮编: 510623

成都
成都市锦江区人民南路二段1号
仁恒置地广场1706室
电话: (028)80740222
传真: (028)80740227
邮编: 610016

本资料中所有内容（包括但不限于产品图片、公司 logo 等）为德国默克集团所有，未经允许，任何人或实体不得擅自使用或转载。

更多详情，敬请登陆：www.merckmillipore.com 技术服务电话：400 889 1988
中国技术服务中心：asiatechserv@merckgroup.com

资料编号：EWB201804

