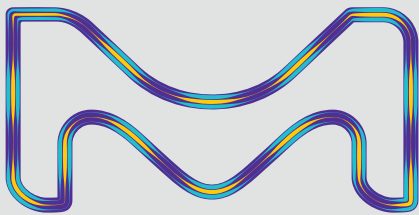


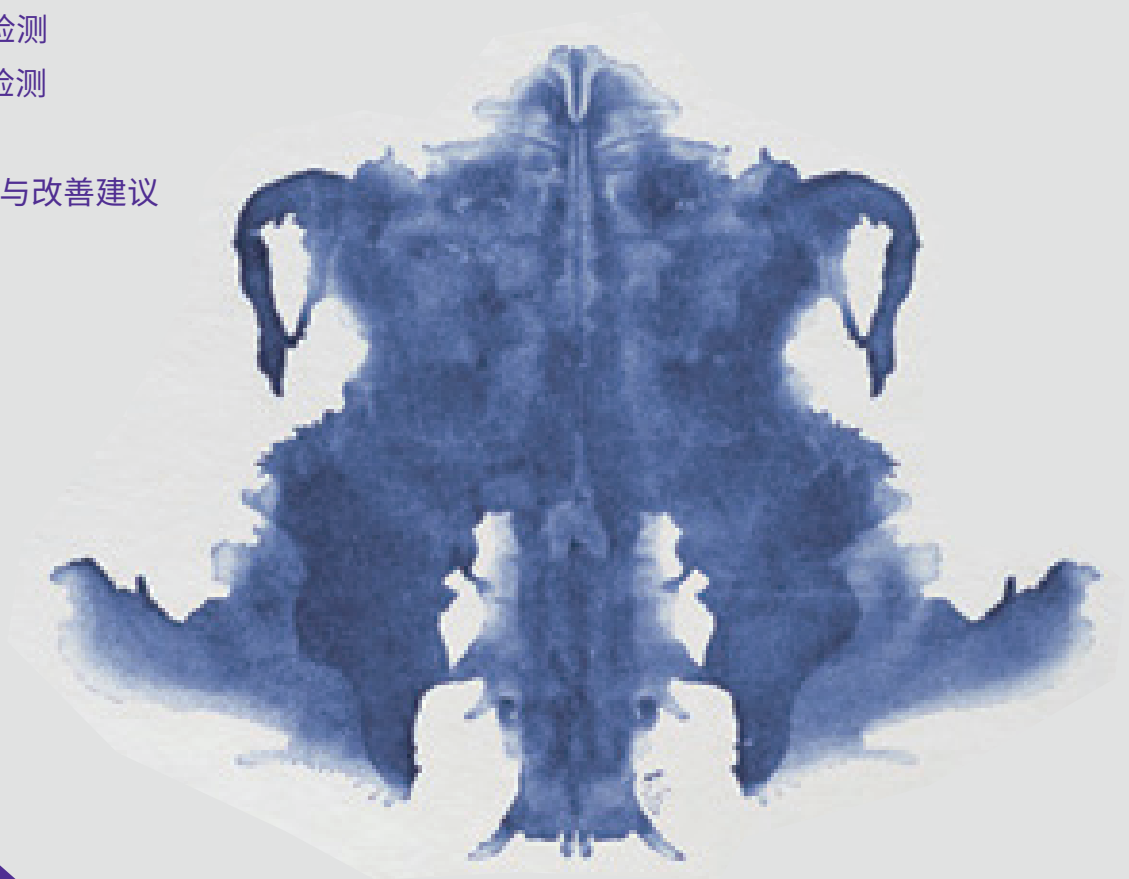
western blotting tools

MERCK

整体优化你的Western blot,
发表高水平文章更有保证



- 最新最全的Western Blot实用工具
- 高效的蛋白样品制备方法
- 应用实例：低丰度蛋白检测
磷酸化蛋白检测
荧光检测
- Western Blot常见问题与改善建议



ALWAYS CURIOUS
IMAGINE
THE NEXT 350 YEARS

在美国和加拿大，默克的生命科学
业务使用MilliporeSigma的名称

选用本手册中默克生命科学 为Western blotting每一步骤精心设计的研 究工具，您一定对数据更有信心。

Western blotting广泛用于特定组织/细胞中目标蛋白是否出现及其量变、位移等分析，是实验室里最常用的蛋白分析平台。但由于其中技术环节较多，获得稳定一致、高质量的结果也并非易事。基于Merck的专业经验，在过去的数十年中，我们已经帮助成千上万的科学家们发表了稳定可靠的Western blotting研究成果。相信我们的不断创新

仍将继续为您提供坚实的支持，帮助您取得科学实验研究的成功。

这里不仅有新颖的保证蛋白样品质量的高效抽提试剂盒，经典的转印膜，灵敏的化学发光底物，还有为挑战性的低丰度蛋白检测、磷酸化蛋白检测、新型荧光检测等专门优化的方案。Western blotting中的常见问题与改善建议可参考本手册后面的讨论部分，也欢迎您随时联系默克生命科学专业的技术支持团队，与我们探讨您在Western blotting中遇到的问题。

垂询电话 **400-889-1988-2分机**

邮件地址 **asiatechserv@merckgroup.com**



细胞培养

Scepter™手持式细胞计数器
Millex®针头式无菌过滤器
Millicell®细胞培养小室及培养板

Western Blotting工作流程 及我们为您提供的解决方案

蛋白抽提 与样品制备

蛋白酶/磷酸酶抑制剂混合物
Benzonase®核酸酶
Buster®系列蛋白抽提试剂盒
高丰度蛋白去除试剂盒
ProteoExtract®亚细胞蛋白抽提试剂盒（膜蛋白，核蛋白，细胞骨架蛋白，线粒体蛋白）
高效PureProteome™ IP磁珠
标签蛋白纯化与酶切
Amicon® Ultra超滤管
Amicon®Pro纯化超滤管
D-tube™透析/电洗脱管

电泳

TruPAGE™预制胶
高品质配胶试剂

转印

高载量Immobilon®-P PVDF转印膜
小分子蛋白转印专用
Immobilon®-PSQ转印膜
荧光检测专用
Immobilon®-FL转印膜
Immobilon®-E即用型
PVDF转印膜 **新**

其它

高品质WB缓冲液
蛋白定量试剂盒

封闭与抗体孵育

小分子Blok®封闭剂
优质抗体
免疫信号增强试剂 **新**
SNAP® i.d.2.0 加速器

检测

预混Luminata™ HRP底物
高性价比Immobilon® HRP底物
超高灵敏度Immobilon® ECL Ultra HRP底物 **新**
ReBlot™多轮杂交试剂盒
优化低丰度蛋白检测组合
优化荧光检测组合
优化磷酸化检测组合

内容提要

蛋白抽提
与样品制备

PG. 03

- ProteoExtract®蛋白抽提试剂盒
- PureProteome™ 蛋白纯化/IP磁珠
- Amicon® Ultra超滤管

电泳与转膜

PG. 12

- TruPAGE™预制胶
- Immobilon® PVDF系列转印膜
Immobilon®-P
Immobilon®-P^{SQ}
Immobilon®-FL
Immobilon®-E

封闭与抗体孵育

PG. 16

- Immobilon®免疫信号增强试剂
- Bløk® 小分子封闭剂
- SNAP® i.d.2.0 加速器
- 优质抗体

检测

PG. 22

- Immobilon® HRP高敏底物
- Luminata™ HRP系列底物
- ReBlot™ Plus抗体剥离试剂盒

应用实例

PG. 26

- 低丰度蛋白检测
多种蛋白富集方法
Immobilon®系列转印膜
Immobilon®免疫信号增强试剂
超高灵敏度HRP化学发光底物
- 荧光Western检测
Immobilon®-FL荧光检测专用转印膜
Bløk®-FL荧光检测专用封闭剂
荧光标记抗体
- 磷酸化蛋白检测
Bløk®-PO磷酸化蛋白检测专用封闭剂
磷酸化检测抗体

FAQ

PG. 32

常见问题与改善建议

相关产品

PG. 34

细胞培养常用产品

蛋白抽提与纯化

好的开始是成功的一半！

默克为您提供完善的蛋白样品制备产品，满足下游应用的高要求。

ProteoExtract®和Buster™系列蛋白抽提试剂盒

天然蛋白样品研究的必备工具

体液样品

高丰度蛋白去除	ProteoExtract® Albumin/IgG Removal Kit 目录号122642, 122643 PureProteome Albumin/IgG Depletion Kit 目录号LSKMAGD12	biomarker研究的基本工具。从体液(血清/血浆/腹水/脑脊液等)高效、特异性去除白蛋白,或同时去除白蛋白和IgG。有效降低样品的复杂性,利于低丰度蛋白的检测。磁珠型白蛋白/IgG去除试剂盒为多样品操作提供了更多操作便利
---------	---	--

培养细胞、组织

组织解离	ProteoExtract® Tissue Dissociation Buffer Kit, 目录号539720	从新鲜组织温和解离活细胞, 配套亚细胞及膜蛋白抽提等试剂盒使用
可溶蛋白抽提	BugBuster, 目录号70584, 71456 YeastBuster, 目录号71186 CytoBuster, 目录号71009	一步法抽提细菌、酵母/真菌/植物, 昆虫/哺乳动物细胞可溶蛋白, 方便下游纯化和分析
总蛋白抽提	RIPA, 目录号20-188 ProteoExtract® Complete Mammalian Proteome Extraction Kit, 目录号539779	单管操作高效分离总蛋白。改善蛋白溶解度, 产物可以直接做2D等分析
 亚细胞蛋白分部抽提	ProteoExtract® Subcellular Proteome Extraction Kit, 目录号539790	分别抽提得到细胞质蛋白、膜性蛋白、细胞核蛋白、细胞骨架蛋白等4种组分, 方便进行蛋白定位、转移等分析; 不需要超速离心机
 膜蛋白抽提	ProteoExtract® Transmembrane Protein Extraction Kit, 目录号71772	用于制备多次跨膜蛋白和膜蛋白复合物; 不需要超速离心机; 制备产物有天然结构和活性, 适合多种下游应用
核蛋白抽提	Nuclear Extraction Kit 目录号71183	仅需30分钟即可完成细胞及组织样本的核蛋白抽提, 制备产物适合WB, EMSA, 活性分析等多种下游研究
线粒体/细胞质蛋白抽提	ProteoExtract® Cytosol/Mitochondria Fractionation Kit, 目录号QIA88	选择性富集细胞质和线粒体蛋白组分; 不需要超速离心机; 制备产物适合多种下游应用

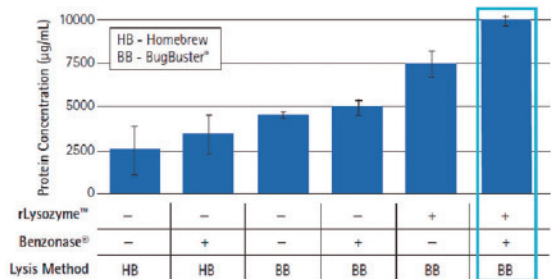
 磷酸化蛋白抽提 磷酸肽富集	PhosphoSafe™ Extraction Reagent, 目录号71296 ProteoExtract® Phosphopeptide Enrichment TiO ₂ Kit, 目录号539722	保护蛋白的磷酸化状态在抽提时不被破坏 消化后富集磷酸化肽段提高MS分析效率
蛋白沉淀	ProteoExtract® Protein Precipitation Kit, 目录号539180	高效沉淀蛋白质组(包括小肽和大蛋白), 提高2D和MS分析效率

*另提供高尔基体、溶酶体、内质网、过氧化物酶体等制备试剂盒。

分析、纯化蛋白的第一步是打开细胞并从中分离出蛋白组分。蛋白抽提步骤极其关键，如果采用激烈的机械破碎或酶解，极易使蛋白暴露于易于降解的环境，而使目的蛋白的活性和完整性受到影响。为了帮助研究者提高蛋白抽提质量，特别是排除超声波操作，默克推出了Buster系列优化裂解抽提试剂，其中BugBuster®用于大肠杆菌蛋白抽提。这种新型抽提试剂能非常温和、高效地从目的细胞中制备可溶蛋白。rLysozyme™溶菌酶溶液有助于提高BugBuster裂解细菌的效果。而加入Benzonase®核酸酶可以降解DNA和RNA，从而使蛋白样本粘度降低，易于纯化。在裂解过程加入蛋白酶/磷酸酶抑制剂混合物能有效防止蛋白降解和脱磷酸化，对于后续分析至关重要。

大肠杆菌裂解与蛋白抽提

不用超声，你能做的更好。

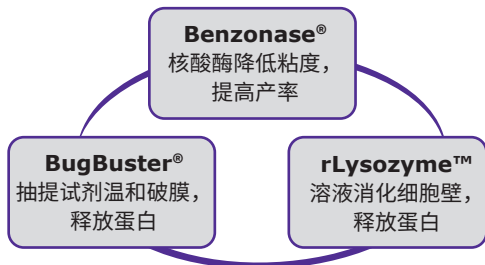


BugBuster Master Mix将BugBuster蛋白抽提试剂、Benzonase核酸酶以及rLysozyme溶菌酶按最优化比例预先混合，可以从革兰氏阴性和革兰氏阳性菌中最大程度地抽提活性可溶蛋白。

BugBuster® Master Mix

活性大蛋白、多样本蛋白抽提的福音

- 更快：采用预混优化试剂抽提，仅需10min室温孵育
- 更容易：不需要超声仪，不需要对样品进行预处理
- 更高效：活性蛋白产量获得成倍增加，超乎想象



昆虫/哺乳动物细胞裂解与蛋白抽提

CytoBuster™温和的非离子成分可以分离具有功能活性的内源或表达蛋白，而不需要诸如超声处理或冻融等激烈的处理，抽提产物用于Western杂交、免疫沉淀和激酶/磷酸酶分析。

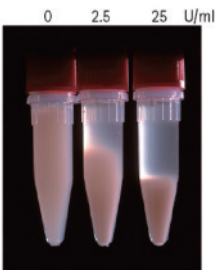
10倍浓缩温和型RIPA缓冲液用于哺乳动物细胞及组织的蛋白抽提，兼容IP和WB，经济好用。

目录号	产品名称	规格
71456-3	BugBuster Master Mix	100ml
70584-3	BugBuster Protein Extraction Reagent	100ml
71110-3	rLysozyme Solution	300ku
20-188	RIPA Lysis Buffer	10*100ml
71009-3	CytoBuster Protein Extraction Reagent	50ml

*国内现货

Benzonase® 核酸酶

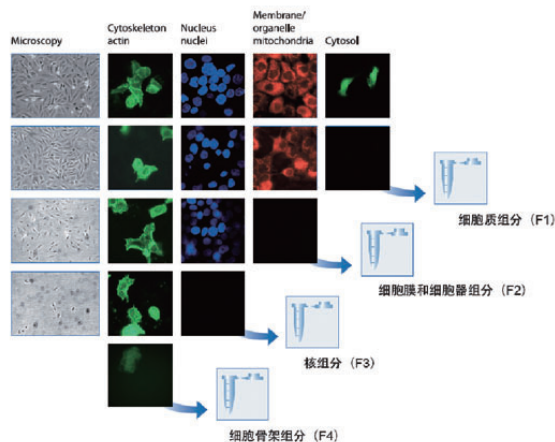
来自细胞或组织材料的核酸往往对蛋白研究产生干扰，稳定、高效地排除核酸对蛋白质及其下游分析的影响，是获得好的蛋白研究相关数据的诀窍之一。默克的Benzonase核酸酶是一种全能酶，可以降解所有形式的DNA和RNA（单链、双链、线性和环状），能迅速降低样品粘度并增加蛋白产量。



目录号	产品名称	规格
E1014	Benzonase Purity > 90%	5ku
71205-3	Benzonase Nuclease HC Purity > 90%	25ku

*国内现货

亚细胞蛋白质组抽提



ProteoExtract亚细胞蛋白质组抽提试剂盒专门用于从哺乳动物细胞和组织中快速高效地按亚细胞结构分离蛋白。蛋白产物可用于1D/2D PAGE、酶活分析（包括激酶活性分析）、蛋白定位研究、芯片检测（Microarray）、（非变性）胶电泳、免疫印迹及其它分析，如：ELISA等。

分部抽提、富集亚细胞蛋白质组不仅是研究蛋白在细胞中的天然分布、迁移及蛋白功能研究的必要手段，也能有效提高1D/2D电泳、WB和MS的分辨率，对低丰度蛋白检测极为有利，是biomarker研究的有力工具。

产品特点

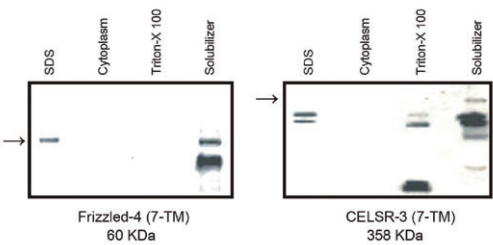
- 获得4个组分：胞浆蛋白、膜蛋白、核蛋白及细胞骨架蛋白
- 无需超高速离心，也无需在较高温度下孵育样品
- 蛋白以天然活性状态被富集
- 试剂盒成分完整，包括抽提缓冲液、蛋白酶抑制剂、Benzonase核酸酶等
- 每个试剂盒可用于20次贴壁或悬浮细胞（3-5×10⁶个细胞/次或20-50mg组织样本）处理

目录号	产品名称	规格
539790-1KIT	ProteoExtract Subcellular Proteome Extraction Kit	20rxn

*国内现货

膜蛋白抽提

膜蛋白及其复合物是信号通路研究中的重要对象。而膜蛋白一般较难溶解于常规抽提试剂，种类复杂而又多为低丰度蛋白，因此高效富集膜性蛋白及其复合物一直都是困扰研究者的难题。默克秉承对化学试剂的深刻理解，开发了跨膜蛋白抽提试剂盒（TM-PEK），帮助您在不需要超速离心的情况下，以较少起始材料就获得足以进行下游分析的高品质膜蛋白、跨膜蛋白及膜蛋白复合物。



ProteoExtract®跨膜蛋白抽提试剂盒

用于温和、高效地从哺乳动物细胞和组织中抽提跨膜蛋白，特别适合GPCRs等信号通路受体蛋白及其复合物抽提、研究。

产品特点

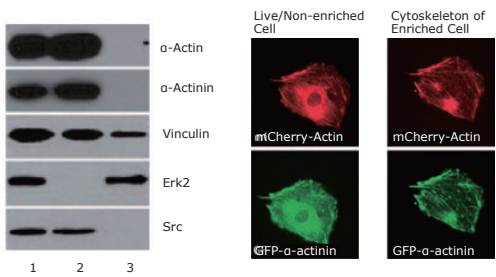
- 特殊无去污剂配方，3-5倍富集天然有活性的膜蛋白及膜蛋白复合物
- 起始材料低至5×10⁶个细胞
- 高效抽提跨膜次数多达7-12次的膜蛋白，如GPCR等
- 可平行处理多个样品，无需超高速离心，两步操作，仅需1至1.5小时

目录号	产品名称	规格
71772-3	ProteoExtract Transmembrane Protein Extraction Kit	40rxn

*国内现货

细胞骨架蛋白抽提与染色

细胞骨架蛋白（包括肌动蛋白和大量相关蛋白）的变化涉及细胞内物质转运、细胞运动、增殖等重要功能，也是细胞周期调控和癌转移研究中的热点。要评估肌动蛋白及其相互作用蛋白，药物处理带来细胞骨架的改变，首先要求特异性、温和地制备细胞骨架组分，消除细胞其它成分对检测的干扰。



采用Merck Millipore的ProteoExtract®细胞骨架蛋白富集及分离试剂盒（目录号17-10195）从胚胎纤维原细胞抽提获得的可溶性细胞质蛋白及不可溶F-actin细胞骨架蛋白，并做Western blot，细胞总蛋白以1% SDS制备。
第1道：总裂解液
第2道：细胞骨架及附属蛋白
第3道：可溶蛋白

细胞核蛋白抽提

NucBuster™蛋白抽提试剂盒可以替代麻烦费时的传统方法（需要7小时）从哺乳动物细胞中抽提核蛋白。整个过程只需30分钟，可以简便地同时处理多个样品，所得的核蛋白中所含的温和去污剂及盐与EMSA相兼容。NucBuster™基于两个专利的去污剂溶液，分别适用于裂解细胞、去除细胞质成份和抽提核蛋白，不会出现一些传统方法抽提核蛋白常见的因基因组DNA释放引起的粘度增加的情况。整个抽提过程在一个微量离心管中进行，仅需要一个涡旋器和微型离心机。该试剂盒提供的试剂足够进行100次从1-5×10⁷个细胞中抽提核蛋白。

目录号	产品名称	规格
71183	NucBuster Protein Extraction Kit	100rxn

*国内现货

高丰度蛋白去除

去除血清样本中高丰度的白蛋白和IgG成分是提高biomarker研究灵敏度的样品制备基本手段，默克的ProteoExtract高丰度蛋白去除试剂盒可以从体液如血浆或血清中高效、特异性地除去白蛋白或同时去除白蛋白和IgG，从而显著降低样品的复杂性，利于低丰度蛋白的检测，应用于发现生物标志物、新药毒理学研究、SELDI蛋白分析等方面。新推出的PureProteome磁珠版产品方便了少量多样本的操作。

默克新开发上市了两款专门针对细胞骨架研究的产品：

- ProteoExtract®细胞骨架富集及分离试剂盒高效抽提活性细胞骨架蛋白，用于蛋白的细胞定位分析。
- ProteoExtract®天然细胞骨架富集及染色试剂盒用于富集骨架蛋白/相关蛋白，进行原位IF（免疫荧光）染色。

目录号	产品名称	规格
17-10195	ProteoExtract® Cytoskeleton Enrichment and Isolation Kit	1kit
17-10210	ProteoExtract® Native Cytoskeleton Enrichment and Staining Kit	1kit

产品特点

- 无需匀浆和透析，全程只需30分钟
- 仅在一个微量离心管中进行，核蛋白得率高
- 抽提产物适用于活性检测、EMSA及NoShift™转录因子检测



泳道 样品
1 无抽提物
2 传统方法抽提
3 无抽提物
4 NucBuster™抽提

NucBuster™蛋白抽提试剂盒
与传统方法比较
分别用NucBuster™蛋白抽提试剂盒与传统方法抽提的CHO-K1核蛋白，跑6%DNA阻滞凝胶，于DEAE纸上干胶及显影的结果

目录号	产品名称	规格
122642-1KIT	Albumin/IgG Removal kit	12rxn
122643-1KIT	Albumin/IgG Removal Kit,Maxi	1kit
LSKMAGD12	PureProteome Albumin/IgG Depletion Kit	1kit

蛋白的稳定性、完整性对于蛋白研究的每一个环节都是最基本的要求，Western blotting当然也不例外。借助我们的专业经验和优质的蛋白抽提试剂盒、蛋白酶抑制剂/磷酸酶抑制剂等工具，你可以制备完整、稳定、有活性的蛋白，用于各种分析，并取得重现性好的高水平研究数据。

默克生命科学集合Sigma，Roche和Calbiochem最好的蛋白酶抑制剂混合物和磷酸酶抑制剂混合物，在样品制备阶段确保各种细胞/组织来源的蛋白的完整性，继而使研究数据具有更好的重现性和可比性。

蛋白酶抑制剂混合物

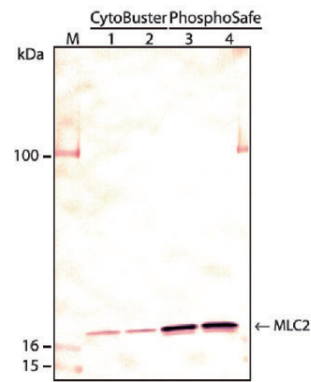
内源性和外源性的蛋白酶会在细胞或组织裂解后迅速降解蛋白。蛋白水解会大大降低蛋白样品的量和活性，增加数据分析难度。为了保证下游研究成功，在裂解细胞的步骤加入蛋白酶抑制剂混合物（或蛋白酶抑制剂）可确保蛋白免于降解。



产品特点

- 方便：铝箔片剂、浓缩液等形式供选择
- 抑制效果可靠：优化的配方，稳定、全面抑制各种蛋白酶活性
- 专业：为哺乳动物、细菌、酵母、真菌和植物设计了专用的优化配方
- 兼顾下游应用：不含EDTA的配方与金属离子螯合层析和2D电泳兼容
- 特别应用：提供非动物来源型抑制剂

磷酸酶抑制剂混合物



磷酸化MLC2的检测
用CytoBuster和PhosphoSafe分别抽提单层未汇合的L6成肌细胞蛋白，抽提的蛋白经离心，用BCA蛋白检测试剂盒（目录号71285-3）定量以确定蛋白浓缩倍数。取等量的抽提蛋白（10 μg），进行SDS-PAGE电泳（4-20%梯度胶），将蛋白转到硝酸纤维素膜，蛋白磷酸化状态以抗磷酸化MLC2作为一抗进行分析，加入山羊抗兔1gG AP混合液（目录号69265-3），用AP检测试剂盒检测。

蛋白的磷酸化和去磷酸化调节信号转导事件，从而控制许多细胞活动，比如细胞分化、细胞增殖及细胞凋亡等等。蛋白激酶将磷酸基团转到特定的蛋白从而使目的蛋白磷酸化，磷酸基团的共价结合改变蛋白构象和配基相互作用能力。蛋白磷酸酶可以去除磷酸基团，使蛋白恢复到去磷酸化状态。从细胞和组织中抽提蛋白的过程中，用磷酸酶抑制剂混合物（如目录号524625等）和PhosphoSafe™磷酸化蛋白专用抽提试剂（目录号71296）对于保持蛋白的磷酸化状态非常关键。

目录号	描述
539134-1SET	Protease Inhibitor Cocktail set
524625-1SET	Phosphatase Inhibitor Cocktail Set II
P8340-5mL	Protease Inhibitor Cocktail, mammalian cell/tissue extracts, DMSO solution
P9599-5mL	Protease Inhibitor Cocktail, plant cell/tissue extracts, DMSO solution
4693132001	cOmplete, EDTA-free Protease Inhibitor Cocktail Tablets provided in EASYpacks
4906837001	PhosSTOP, 20 Tablets

*国内现货



免疫沉淀

Protein A, Protein G磁珠和琼脂糖珠

磁珠成为IP/coIP的首选

- 磁珠表面光滑，大幅度降低杂蛋白背景
- 减少背景、信噪比更好：磁珠自带颜色、被紧紧吸附在管壁，样品换液充分且得率高
- 更快速方便：无需离心，节省时间
- 更高效：可拆卸的磁力架设计，方便多个磁珠/样品在架子上直接进行震荡混匀

同时提供预包被的IP琼脂糖珠，和高流速糖载量的琼脂糖珠用于抗体纯化。

目录号	产品名称	规格
LSKMAGA02	PureProteome Protein A Mag Beads	2*1ml
LSKMAGA10	PureProteome Protein A Magnetic Beads	10ml
LSKMAGG02	PureProteome Protein G Mag Beads	2*1ml
LSKMAGG10	PureProteome Protein G Mag Beads	10ml
LSKMAGAG02	PureProteome Protein A/G Mix Mag Beads	2*1ml
LSKMAGAG10	PureProteome Protein A/G Mix Mag Beads	10ml
LSKMAGS08	PureProteome Magnetic Stand, 8 well	1
IP05	Protein G Plus/Protein A Agarose Suspension	1.5mL
16-125	Protein A-Agarose	10ml
16-156	Protein A Agarose Fast Flow	10ml
16-266	Protein G Agarose Fast Flow	10ml

*国内现货



IP或coIP操作步骤	操作方法和推荐产品		
细胞裂解	RIPA 缓冲液（目录号 20-188）或者 CytoBuster™ 哺乳动物细胞 / 昆虫细胞裂解 - 蛋白抽提试剂（目录号 71009）	+	蛋白酶抑制剂混合物（目录号 539134）
（磷酸化蛋白研究推荐）	PhosphoSafe™ 磷酸蛋白抽提试剂（目录号 71296）	+	蛋白酶抑制剂混合物（目录号 539134）
抗原 / 抗原复合物 - 抗体结合	优质的经 IP 实验验证过的抗体（国内 3000 多种现货）		
复合物被捕获	方法 1（最推荐） PureProteome™ 系列磁珠，包括 Protein A, Protein G, Protein A/G 混合型, Kappa, Lambda 等；磁珠法最为快捷而背景低，数据重现性好，可同时操作多个样品	方法 2 Catch & Release™ 试剂盒（目录号 17-500 等）： 离心柱法，操作方便，非变性条件洗脱，蛋白下游可以继续由于活性分析等	方法 3 传统琼脂糖珠法（目录号 IP05 等）： 预包被 BSA 以减少非特异性结合背景

FLAG® Tag IP试剂盒和纯化产品

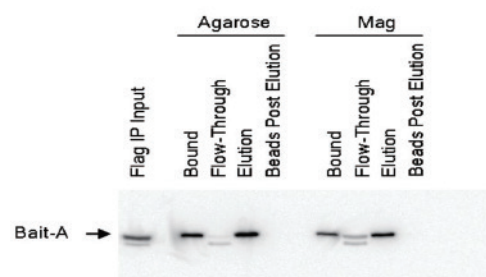
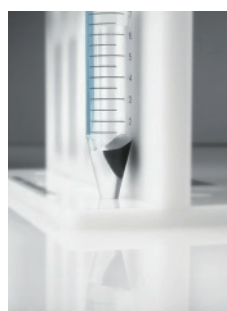
DYKDDDDK仅为1kDa，不会占据表位与结合域，避免导致融合蛋白的功能、分泌性以及转运发生改变，因此FLAG®Tag是最受欢迎的纯化/IP/coIP融合标签。

Sigma的FLAG免疫沉淀试剂盒（目录号FLAGIPT1）使用特异性极佳的anti-FLAG M2亲和凝胶结合，继而采用竞争性FLAG肽洗脱，这一快速、高效的免疫沉淀获得的蛋白可用于检测蛋白大小、翻译后修饰及相互作用。

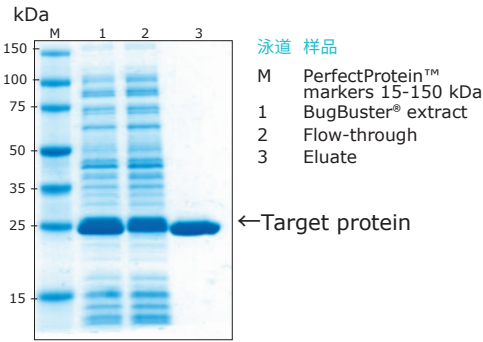
- Sigma提供的anti-FLAG® M2 系列产品规格齐全，是行业标杆产品。

目录号	产品名称
A2220	ANTI-FLAG® M2 Affinity Gel
M8823	Anti-FLAG® M2 Magnetic Beads
F2426	EZview™ Red ANTI-FLAG® M2 Affinity Gel
F4799	3X FLAG® Peptide

*国内现货



重组表达蛋白纯化



GST•Bind™ 亲和纯化
粗提物包含多余的未结合GST, 通过2ml GST•Bind 柱纯化, 总蛋白产量为8mg/ml树脂。

亲和纯化技术能帮助研究者特异地从复杂背景中分离目的分子, 或者制备蛋白用于相互作用分析, 或者从某个反应中去除某种分子等。默克生命科学提供包括用于从大肠杆菌、酵母、昆虫或哺乳动物细胞表达的带有His, GST, HA, c-Myc, 生物素化, V5, S, Strep, HSV, Nus和T7等融合标签的重组蛋白的纯化和分析产品。

目录号	产品名称
A2095	Monoclonal Anti-HA Agarose antibody produced in mouse
A7470	Anti-c-Myc Agarose Affinity Gel antibody produced in rabbit
70239-3	His*Bind Purification Kit
70666-3	Ni-NTA His*Bind Resin
70541-3	GST*Bind Resin
S1638	Streptavidin Agarose from Streptomyces avidinii
A7345	Anti-V5 Agarose Affinity Gel antibody produced in mouse

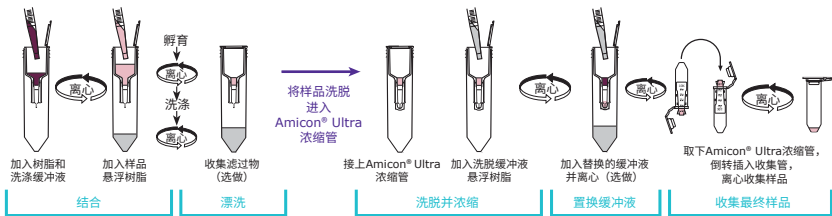
*国内现货

Amicon® Pro纯化超滤管

亲和纯化·浓缩·换液从此变得便捷高效

将纯化与后续的换液、浓缩结合起来, 实现完美的流线性操作。仅需几次低速离心, 没有样品转移, 更少的样品丢失。配合0.5mL Amicon® 超滤管使用。适合多个样品的小规模纯化, 方便快捷, 数据可比性好。

10mL上样槽一次离心完成20倍体积的换液, 使小体积样品的脱盐/缓冲液置换变得极为便捷。



目录号	产品名称
ACS500024	Amicon® Pro 24Pack (不含超滤管)

*国内现货

蛋白酶

默克还配套提供从重组蛋白上去除标签的蛋白酶 (肠激酶, 凝血酶, Xa因子, HRV3C蛋白酶等) 和试剂盒。

超滤浓缩与透析

Amicon® Ultra 超滤离心管

在组织、细胞的破碎及抽提过程中，蛋白样品往往被稀释，而且带有高盐成分，使其不能直接用于WB分析。采用快速、高效的浓缩和除盐、缓冲液置换方法处理蛋白样品，超滤方法是首选。Amicon® Ultra 超滤离心管设计精巧，规格齐全，是行业标杆产品。

- 再生纤维素超滤膜，孔径精准，蛋白吸附损失低
- 反转离心提高样品回收率
- 双竖膜设计浓缩快，热封工艺避免胶水污染



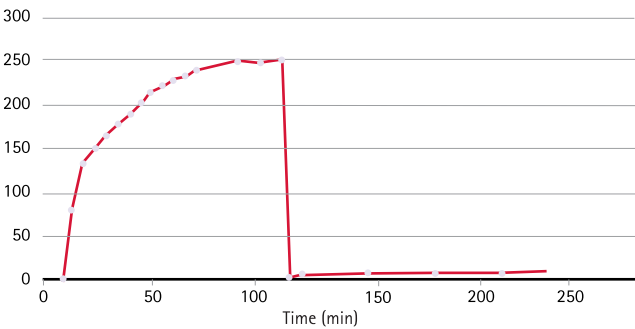
	Amicon® Ultra-0.5	Amicon® Ultra-2	Amicon® Ultra-4	Amicon® Ultra-15
				
起始样品体积	<0.5 mL	<2 mL	<4 mL	<15 mL
终体积	15–20 µL	15–70 µL	50 µL	200 µL
装置式样	标准 1.5 mL 离心管	标准 15 mL 离心管	标准 15 mL 离心管	标准 50 mL 离心管
35°固定角转子离心	14,000 g 1,000 g 反转离心	7,500 g 1,000 g 反转离心	100kDa的5,000g 其它的7,500g	5,000 g
吊篮式转子离心	N/A	4,000 g 1,000 g 反转离心	4,000 g	4,000 g

D-tube™透析/电洗脱管

相较于传统的透析袋，D-tube操作更方便，减少污染和损失，样品回收率超过>89%。采用标准枪头移液操作，方便ul级样品处理。双膜设计，透析面积大，速度远较传统方法快，2-5小时完成透析。截留分子量分为<7K，7-24K和>24K。

产品	D-Tube™ Mini	D-Tube™ Midi	D-Tube™ Maxi	D-Tube™ Mega	D-Tube™ Mega
起始样品体积	10 - 250 µL	50 - 800 µL	100 µL - 3 mL	3 to - mL	10 - 15 mL

更多D-Tube™透析管应用及订购信息请垂询400-889-1988-2分机。



0.5mL 2M NaCl的BSA溶液用D-Tube™透析管、500mL Milli-Q®水进行透析，测量管外水的电导率。100分钟透析后，蛋白得率为89%，脱盐效果达99.9%。



蛋白定量

BCA蛋白检测试剂盒（目录号71285）可用于定量浓度在20-2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的蛋白样品，可在数分钟内得到检测结果。试剂盒中提供500ml的BCA溶液，15ml的硫酸铜溶液及3 $\times$ 1ml的牛血清白蛋白标准品(2mg/ml)。每个试剂盒足够用于500次标准反应或者2500次微量反应的蛋白浓度测定。BCA1-1KT试剂盒有着类似的表现。



QuantiPro™ BCA 试剂盒

用于体积小而蛋白浓度非常低情况下的蛋白定量。

- 精确测定蛋白浓度范围：试管样品0.5-30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；96或384孔板样品1-20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。目录号OPBCA-1KT。

Bradford 试剂

基于蛋白与Brilliant Blue G形成复合物进行定量，目录号B6916-500mL等。

- 即用型试剂，无需混合或稀释
- 显色迅速，5分钟孵育后即可在595nm读数
- 不会受还原糖、还原底物或硫醇等干扰
- 适合用于小样（(1-10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)或标准样（50-1400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）检测

Direct Detect®红外蛋白定量仪

目录号DDHW00010-WW。仅需2 μl 样本、1分钟检测、无需染色，准确读取蛋白定量结果，无需样品处理，无需每次制作标准曲线，无需比色杯、没有废液。

直接基于酰胺区在红外吸收光谱分析，无需考虑氨基酸的组成、染料性质、氧化还原电位这些因素，避免了比色法分析的缺陷，可以获得更加准确的结果。

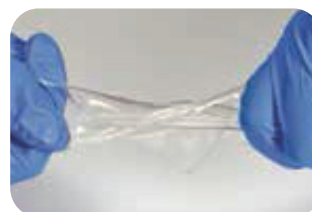
蛋白、脂肪、碳水化合物以及核酸都有可被区分的特定红外吸收光谱，所以您可以很轻松实现复杂混合物各种组分浓度的准确分析。



电泳

TruPAGE™ 预制聚丙烯酰胺凝胶

TruPAGE™预制胶采用改良的复合凝胶配方、中性 pH 值环境，具有强韧、稳定、高分辨率等特性，可保证蛋白的精确分离和实验结果的一致性。此外，TruPAGE™预制凝胶采用专利堆积胶技术、突出的梳齿设计，具有更大的上样量、最佳的堆积能力、更高的分辨率、更清晰的电泳条带。

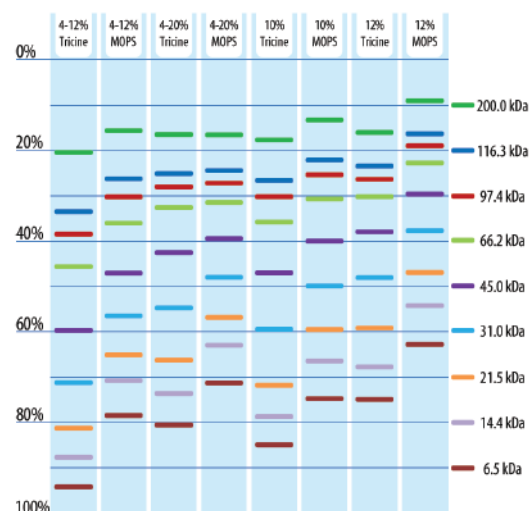


产品特点

- **更强韧**——比标准凝胶强韧 10 倍，防止断裂
- **高性能**——更高分辨率和最佳膜印迹效果
- **更稳定**——中性 pH 值凝胶，2-8°C 可稳定保存 2 年
- **易操作**——即插即用型，无需移除梳子、封条等步骤
- **更快捷**——电泳 30 分钟即可实现最佳分离效果
- **良好兼容**——可与多种凝胶电泳装置兼容

技术规格	
凝胶尺寸	10×8 cm: 8.5 cm×6.5 cm×1 mm
(宽×长×厚)	10×10 cm: 8.0 cm×8.5 cm×1 mm
凝胶浓度	10%、12%、4-12%、4-20%
上样量	35 µl/孔(12孔胶), 17 µl/孔(17孔胶)
电泳缓冲液	TEA-Tricine 或 TEA-MOPS
保存条件	2-8 °C
凝胶保质期	自生产之日起2年
包装规格	2块/盒, 10块/盒

蛋白迁移表



产品规格	兼容电泳装置	
10×8 cm	Bio-Rad	Mini-Protean® II
	Bio-Rad	Mini-Protean® Tetra
	Hoefer	Mighty Small™ (SE260/SE280)
10×10 cm	Life Tech	X-cell™ Bolt®
	Lonza	PAGEr® Minigel Chamber

缓冲液及试剂

TruPAGE™预制凝胶采用 TEA 缓冲液系统，中性 pH 凝胶环境有效防止丙烯酰胺的化学水解，使其更稳定、电泳效果更佳。配合使用 TEA-Tricine 和 TEA-MOPS 电泳缓冲液可获得最佳分离效果和更高分辨率。

*产品详细信息及订购请访问sigma.com/trupage

蛋白电泳制胶配方

浓 缩 胶	胶的体积 (mL)									
			5	10	15	20	25	30	40	50
	胶浓度	成分	配制不同体积和浓度凝胶所需各成分的体积 (mL)							
5%		水	2.97	5.94	8.91	11.88	14.85	17.82	23.76	29.7
		40%丙烯酰胺混合液 [A]	0.63	1.25	1.88	2.5	3.13	3.75	5	6.25
		1.5 mol/L Tris (pH8.8) [B]	1.3	2.6	3.9	5.2	6.5	7.8	10.4	13
		10% SDS [C]	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
		10% 过硫酸铵 [D]	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
		TEMED [E]	0.004	0.008	0.012	0.016	0.02	0.024	0.032	0.04

分 离 胶	胶的体积 (mL)									
			5	10	15	20	25	30	40	50
	胶浓度	成分	配制不同体积和浓度凝胶所需各成分的体积 (mL)							
6%		水	2.85	5.7	8.55	11.4	14.25	17.1	22.8	28.5
		40%丙烯酰胺混合液 [A]	0.75	1.5	2.25	3	3.75	4.5	6	7.5
		1.5 mol/L Tris (pH8.8) [B]	1.3	2.6	3.9	5.2	6.5	7.8	10.4	13
		10% SDS [C]	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
		10% 过硫酸铵 [D]	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
		TEMED [E]	0.004	0.008	0.012	0.016	0.02	0.024	0.032	0.04
8%		水	2.6	5.2	7.8	10.4	13	15.6	20.8	26
		40%丙烯酰胺混合液 [A]	1	2	3	4	5	6	8	10
		1.5 mol/L Tris (pH8.8) [B]	1.3	2.6	3.9	5.2	6.5	7.8	10.4	13
		10% SDS [C]	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
		10% 过硫酸铵 [D]	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
		TEMED [E]	0.004	0.008	0.012	0.016	0.02	0.024	0.032	0.04
10%		水	2.35	4.7	7.05	9.4	11.75	14.1	18.8	23.5
		40%丙烯酰胺混合液 [A]	1.25	2.5	3.75	5	6.25	7.5	10	12.5
		1.5 mol/L Tris (pH8.8) [B]	1.3	2.6	3.9	5.2	6.5	7.8	10.4	13
		10% SDS [C]	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
		10% 过硫酸铵 [D]	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
		TEMED [E]	0.004	0.008	0.012	0.016	0.02	0.024	0.032	0.04
12%		水	2.1	4.2	6.3	8.4	10.5	12.6	16.8	21
		40%丙烯酰胺混合液 [A]	1.5	3	4.5	6	7.5	9	12	15
		1.5 mol/L Tris (pH8.8) [B]	1.3	2.6	3.9	5.2	6.5	7.8	10.4	13
		10% SDS [C]	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
		10% 过硫酸铵 [D]	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
		TEMED [E]	0.004	0.008	0.012	0.016	0.02	0.024	0.032	0.04
15%		水	1.72	3.44	5.16	6.88	8.6	10.32	13.76	17.2
		40%丙烯酰胺混合液 [A]	1.88	3.76	5.64	7.52	9.4	11.28	15.04	18.8
		1.5 mol/L Tris (pH8.8) [B]	1.3	2.6	3.9	5.2	6.5	7.8	10.4	13
		10% SDS [C]	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
		10% 过硫酸铵 [D]	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
		TEMED [E]	0.004	0.008	0.012	0.016	0.02	0.024	0.032	0.04

注释:

(A) 丙烯酰胺 Sigma目录号V900845

(D) 过硫酸铵 Sigma目录号V900883

(B) Tris Sigma目录号V900483

(E) TEMED Sigma目录号V900853

(C) SDS Sigma目录号V900859

按以上要求配制成相应的溶液

转印

多年后，我们迎来WB新时代！

1975年

Dr.Southern使用Millipore的NC膜发明了Southern Blot技术

1985年

Millipore发明了世界上第一张0.45μm PVDF膜 Immobilon®-P，显著提升WB检测效能

1988年

Immobilon®-P^{SQ} 0.2μm PVDF小分子印迹膜解决<20kDa蛋白/多肽检测成功率低的问题

2005年

Millipore 推出 Immobilon®-FL改良PVDF印迹膜，满足荧光检测对低背景的要求

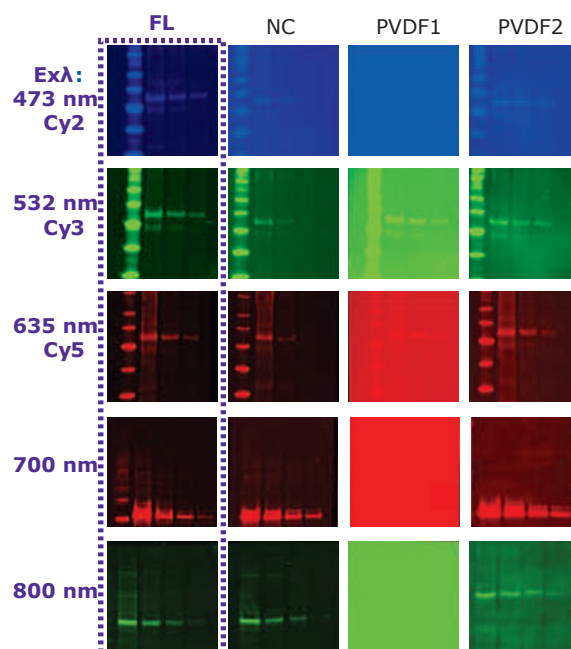
2018年

革命性的Immobilon®-E即用型PVDF印迹膜全新上市——不再需要高浓度甲醇激活，更环保、更健康！

Immobilon®已经成为转印膜的代名词，在实验室中支持您获得每一次Western Blot检测的成功！

Immobilon® PVDF 转印膜是 Western Blot 的最佳用膜。与硝酸纤维素膜相比，具有易于操作、抗溶剂能力强和蛋白吸附力强的特点，大大地提高了检测的灵敏度，而且与大多数染色方法和检测方法都兼容。

- 蛋白吸附能力强、载量高，结合稳固，信号更强
- 延展性好，方便长时间存放，不像纯硝化纤维那样易翘易脆裂，更方便做多轮杂交
- 可以根据不同蛋白选择最适孔径的膜，从而获得最佳的蛋白结合效果
- 专门提供改良低荧光背景PVDF膜
- 卷膜/预切膜片/三明治等多种产品形式供选择



Immobilon®-FL相较于传统PVDF膜和NC膜，在荧光WB检测中提供了更好的信噪比

	Immobilon® NC	Immobilon®-E	Immobilon®-P	Immobilon®-P ^{SQ}	Immobilon®-FL
最适应用	亲水型转印	最常用，适合各种胶的蛋白转印	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	用于荧光及化学发光免疫印迹检测
成分	混合纤维素酯 (MCE)	PVDF		PVDF	PVDF
亲水性	亲水	亲水	疏水	疏水	疏水
孔径	0.45 μm	0.45 μm		0.2 μm	0.45 μm
检测方法	化学发光，荧光	化学发光，显色，放射		化学发光	化学发光，荧光
蛋白结合量	胰岛素: 117 μg/cm ²	胰岛素: 160 μg/cm ²		胰岛素: 262 μg/cm ²	胰岛素: 155 μg/cm ²
	BSA: 160 μg/cm ²	BSA: 215 μg/cm ²		BSA: 340 μg/cm ²	BSA: 205 μg/cm ²
	山羊IgG: 259 μg/cm ²	山羊IgG: 294 μg/cm ²		山羊IgG: 448 μg/cm ²	山羊IgG: 300 μg/cm ²

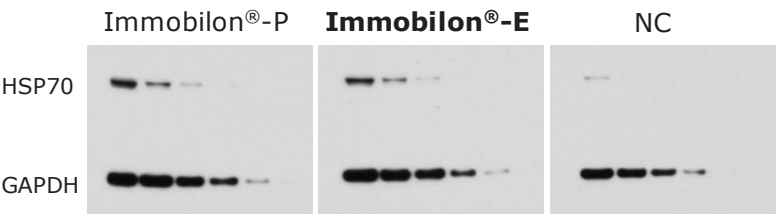
Immobilon®-E 即用型PVDF转印膜

Immobilon®-E即用型转印膜是一种新型聚偏二氟乙烯(PVDF) 微孔膜，可用于Western免疫印迹。与同类产品相比，Immobilon®-E即用型转印膜在转印前无需使用醇溶液预润湿，可直接使用标准转印缓冲液润湿。与硝酸纤维素膜相比，它具有更好的操作特性和染色能力、强溶剂抗性和高信噪比，因此具有更高的灵敏度。

Immobilon®-E即用型转印膜具有0.45μm的标称孔径，并且能够结合广泛分子量范围内的蛋白质，是大多数Western免疫印迹应用的理想之选。



*E的含义为环境友好型，更健康安全



Immobilon®-E具有与NC膜一样的非预润湿的特点，却有与-P一样的检测灵敏度，操作方便安全，同时保障了低丰度蛋白的检测成功率

- 唯一的不需要醇预润湿、操作类似NC膜的PVDF膜
- 蛋白载量高,免疫信号强,低背景
- 韧性好,易操作,适于长时间存放
- 可以用于多次抗体剥离和再杂交



*转印缓冲液中的醇溶液(甲醇、乙醇或异丙醇)具有两项重要功能:稳固凝胶尺寸并去除蛋白质分子中的十二烷基硫酸钠(SDS)，从而改善蛋白质与膜的结合。但是，对于大分子蛋白质或难溶性蛋白质，建议降低转印缓冲液中的醇浓度和SDS添加量，以改善蛋白质从凝胶上的洗脱，同时维持转印过程中的蛋白质溶解性。

目录号	产品名称	规格
IEVH00005	Immobilon-E PVDF Transfer Membrane half roll, 0.45μm	26.5cm x 1.875m
IPVH00010	Immobilon-P PVDF Transfer Membrane roll, 0.45μm	26.5cm x 3.75m
IPVH00005	Immobilon-P PVDF Transfer Membrane half roll, 0.45μm	26.5cm x 1.875m
ISEQ00010	Immobilon-P ^{SQ} PVDF Transfer Membrane roll, 0.2μm	26.5cm x 3.75m
ISEQ00005	Immobilon-P ^{SQ} PVDF Transfer Membrane half roll, 0.2μm	26.5cm x 1.875m
IPFL00010	Immobilon-FL PVDF Transfer Membrane roll, 0.45μm	26.5cm x 3.75m
IPFL00005	Immobilon-FL PVDF Transfer Membrane half roll, 0.45μm	26.5cm x 1.875m
HATF00010	Immobilon NC Transfer Membrane roll, 0.45μm	33cm x 3m
INYC00010	Immobilon-NY+ Charged Nylon Transfer Membrane roll, 0.45μm	33cm x 3m

更多三明治或预切膜产品详情请垂询:400-889-1988-2分机。

封闭与抗体孵育

Immobilon®-免疫信号增强试剂

Immobilon®免疫信号增强剂专用于信号强度较低的Western免疫印迹。这种即用型试剂兼具信号放大和封闭功能，可通过增强抗体-抗原反应，使产生的信号强度比传统试剂强2-10倍。该试剂适用于传统免疫检测或SNAP i.d.®蛋白质检测系统的膜封闭和抗体稀释步骤。Immobilon®信号增强剂可兼容PVDF和硝酸纤维素印迹膜，适用于显色法、化学发光法和荧光检测方法。对于信号足够强，但一抗珍贵且有限的情形，使用Immobilon®信号增强剂可减少一抗用量。

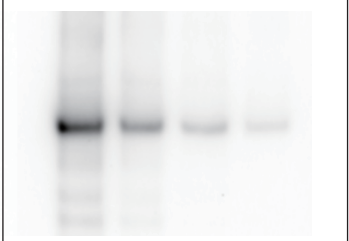
操作步骤

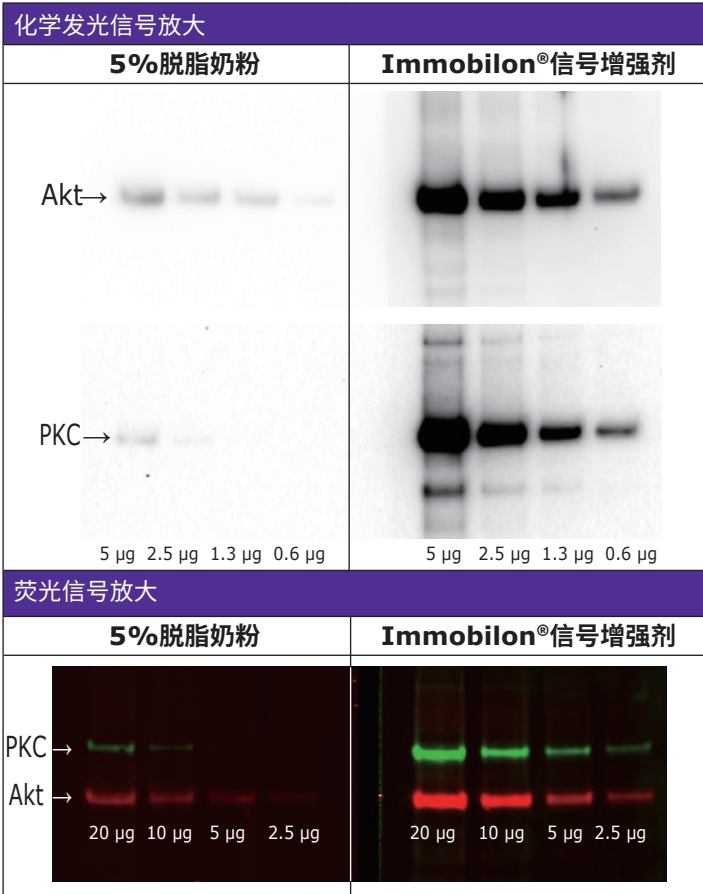
1. 加入足量的Immobilon®信号增强剂覆盖膜表面，以封闭印迹膜。
2. 将印迹膜孵育一定时间（通常为1小时），其间轻轻摇动。
3. 使用Immobilon®信号增强剂将一抗稀释至所需浓度。
4. 倒出封闭液并加入稀释的一抗溶液，孵育印迹膜一定时间（通常为1小时），其间轻轻摇动。
5. 移除一抗溶液。
6. 使用TBST洗膜3-4次，每次至少5分钟。
7. 使用Immobilon®信号增强剂将二抗稀释至所需浓度。
8. 最后一次洗涤后，丢弃缓冲液并加入稀释的二抗溶液。
9. 将印迹膜孵育一定时间（通常为1小时），其间轻轻摇动。
10. 移除二抗溶液，然后使用TBST洗膜3-4次，每次至少5分钟。
11. 继续进行下一步印迹膜检测。

减少抗体使用量

印迹膜A：使用溶于TBST的5%脱脂奶粉作为封闭液和抗体稀释液。抗Akt抗体按1:5,000的比例稀释。

印迹膜B：使用Immobilon®信号增强剂作为封闭液和抗体稀释液。一抗用量减少至1/10，因此可按1:50,000的比例稀释。

印迹膜A：5%脱脂奶粉，按1:5,000稀释的抗Akt抗体	印迹膜B：Immobilon® 信号增强剂，按1:50,000稀释的抗Akt抗体
	



目录号	产品名称	规格
WBSH0500	Immobilon® Signal Enhancer%	500mL

*国内现货

Bløk®小分子封闭剂

Western blotting中封闭膜上未结合蛋白的区域是防止抗体非特异结合、产生高背景的必要手段。传统的牛奶/蛋白类封闭剂会形成较厚的、粘粘的蛋白层，因此：

1. 导致与抗体发生非特异性相互作用，增加了背景
2. 不适合做蛋白磷酸化检测，因为牛奶中本身含有的磷酸化蛋白会干扰检测

Bløk®-CH是如何改善检测效果的？

这种无蛋白化学试剂在膜表面形成均匀的小分子封闭层，不会像牛奶一样在膜表面形成厚而粘稠的一层，对降低背景非常有效。



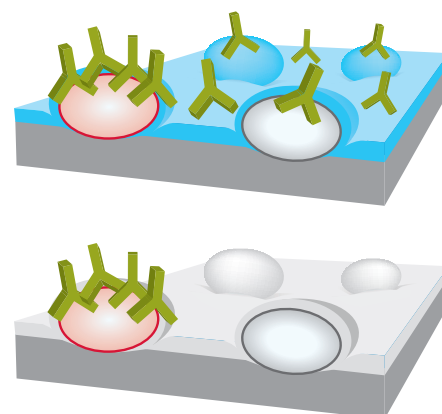
产品特点

- 显著降低背景，改善蛋白检测效果
- 洗去杂交信号，可以继续考染保存数据，不必额外跑一次电泳
- 性质稳定，室温可存放2年以上
- 不用制备，即用方便

Supplier P NFDM Bløk®-CH



Bløk®封闭剂较脱脂奶粉（NFDM）或P品牌封闭剂有着更好的信噪比。
经EGF刺激的A431细胞抽提的裂解液（10 - 2.5µg/道），用化学发光法检测其中的p53。采用封闭剂进行封闭和抗体孵育。
TBST: 含有Tween-20的Tris缓冲液

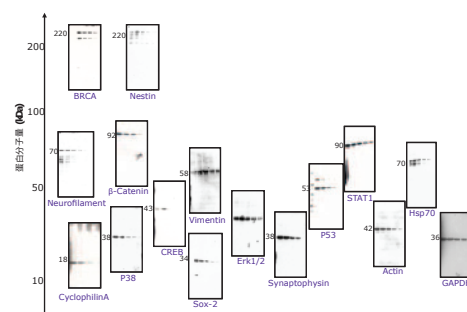


牛奶在膜上形成厚厚的一层蛋白，与抗体的非特异性结合导致整体高背景（上）。Bløk®封闭剂仅在膜上形成很薄的一层化学分子层，不会与抗体结合（下），背景较低。

Bløk® 封闭剂在各种裂解液和抗体的检测中均保证了优良的使用效果

目录号	产品名称	检测方法	规格
WBAVDCH01	Bløk®-CH Reagent	化学发光检测	500 mL
WBAVDL01	Bløk®-FL Reagent	荧光检测	500 mL
WBAVDP001	Bløk®-PO Reagent	磷酸化蛋白检测	500 mL

*国内现货



在Snap® i.d.2.0上完成所有一抗和二抗都采用Bløk®-CH封闭剂进行稀释。

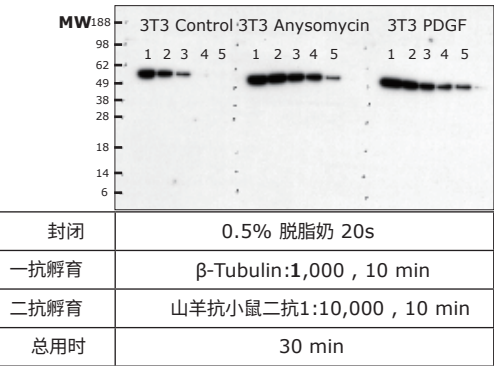
SNAP i.d.® 2.0 免疫杂交加速器

- 高效率：30分钟完成Western Blotting膜封闭、洗涤和抗体孵育全过程
- 通过真空驱动快速进行，操作程序标准化
- 保证检测灵敏度，更高的信噪比
- 与常规WB上游转膜和下游检测方法、试剂均兼容
- 新增组件用于同时进行4个WB检测

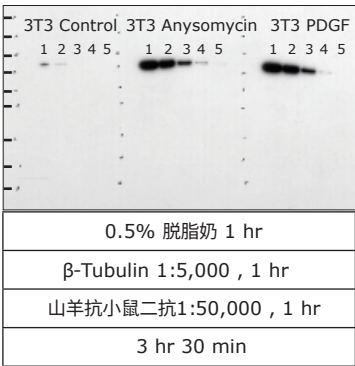


抗体回收率>80%!

SNAP i.d.® 2.0 做 Western Blotting



传统的检测方法



	SNAP id 2.0	传统Western Blot
封闭	20秒	~1小时
一抗孵育	10分钟	>1小时~过夜
漂洗	3分钟	~15分钟
二抗孵育	10分钟	>1小时
漂洗	3分钟	~15分钟
总操作时间	<30分钟	4~20小时

IHC（免疫组织化学）检测也可以用SNAP id 2.0啦!

SNAP id 2.0 拓展了新应用，欢迎致电了解详情，电话400-889-1988-2



目录号	产品名称	规格
SNAP2MIDI	SNAP I.d. 2.0 Protein Detection System-Midi	8.5x13.5cm
SNAP2MINI	SNAP I.d. 2.0 Protein Detection System-Mini	7.5x8.4cm
SNAP2MM	SNAP I.d. 2.0 Protein Detection System-Mini & Midi	7.5x8.4cm 8.5x13.5cm
SNAP2BHMD0100	SNAP I.d. 2.0 Midi Blot Holders	100PK
SNAP2BHMN0100	SNAP I.d. 2.0 Mini Blot Holders	100PK

Tips! 轻松操作，一目了然

默克的SNAP .id.® Western Blotting和IHC操作指南视频文件详细地展示了这种新工具的使用方法，助您轻松掌握有趣而有效的新方法。



视频文件请向默克指定代理商索取。

已有数百篇文章推荐SNAP应用于Western Blotting实验，SNAP加速器已经成为常规WB实验的一个环节。*查看随时更新的引用文献列表，请访问 www.merckmillipore.com/snappub

引用文献举例：

1. Mhrshahi R., Barclay A.N., Brown M.H., (2009, October 15), Essential roles for Dok2 and RasGAP in CD200 receptor-mediated regulation of human myeloid cells, J Immunol., 183(8), 4879-86.
2. Fujimori K., Ueno T., et al. (2010, March 19), Suppression of adipocyte differentiation by aldo-keto reductase 1B3 acting as prostaglandin F2(synthase, J Biol Chem., 285(12), 8880-6.
3. Sakane A., Honda K., Sasaki T., (2010, February), Rab13 regulates neurite outgrowth in PC12 cells through its effector protein, Mol Cell Biol.,30(4), 1077-87.

优质抗体 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
- 高亲和性
- 高文献引用率，行业内科研者的验证和认可
- 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。

默克提供超过9万种的高品质抗体，覆盖肿瘤、神经、免疫、代谢、干细胞、发育等多个热门领域。

- 高品质：所有抗体都经过严格的内部验证，售后投诉率仅1%
- 高文献引用率：多种抗体的文献引用率名列前三位。
- 多实验验证：在WB、IHC、IF等实验和人、小鼠、大鼠等十几个种属中进行验证，提供丰富的图片。
- 高稀释倍数：二抗在WB实验中稀释倍数高达1：160000

默克畅销抗体研究领域

- 神经生物学抗体：神经元、胶质细胞、神经干细胞等标志物抗体
- 表观遗传学抗体：组蛋白甲基化、乙酰化、磷酸化抗体，ChIP/RIP级抗体
- 内参抗体：Actin, Tubulin, GAPDH等
- 二抗：抗小鼠、兔子、人、羊等十几个种属，带HRP、AP、荧光素等多种标记
- HPA验证抗体：人类蛋白质组学研究“金标抗体”
- 自噬抗体：LC3, p62, ATG家族, mTOR信号通路
- 其他畅销产品：标签抗体

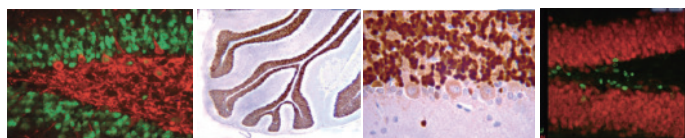
明星神经生物学抗体

MAB377 Anti-NeuN Antibody, clone A60

文献引用率高：

NeuN抗体文献引用率排名第一。超过2000篇引用文献，占总文献数的85%以上。

实验图片丰富：



多种属验证：Avian, Chicken, Ferret, Human, Mouse, Pig, Rat, Salamander

多实验验证：FC, ICC, IF, IHC, IH(P), IP, WB

高性价比：500ug包装，目录价4505RMB。

神经生物学畅销抗体

Material Code	Material Desc.EN
MAB377	NEURONAL SPEC NUC PROT, MS X-500UG
AB152	TYROSINE HYDROXYLASE, RB X-100UL
MAB360	GFAP, MS X-100UL
MAB1637	TUBULIN (BETA III), MS X-100UL
ABN78	Anti-NeuN (rabbit polyclonal)
AB5320	NG2 CHOND SULF PROTEO, RB X-100UG
MAB318	TYROSINE HYDROXYLASE, MSX-100UL
AB5603	SOX-2, RBX-100UG
MAB5406	GAD 67, MSX-100UG
MAB397	GLUR2, MS X-100UG
AB9610	OLIG2, RBX-100UL
MAB3420	TAU-1, MSX-100UG (R)
AB5622	MAP2, RB X-100UL

Material Code	Material Desc.EN
AB5804	GFAP, RBX-50UL
MAB345	OLIGODENDROCYTE O4, MS X-50UG R
AB144P-200UL	CHAT, GT X, AP-200UL
AB144P	CHAT, GT X, AP-500UL
MABN92	Anti-Iba1/AIF1
04-855	ANTI-GLUR1, CLONE C3T - 100UL
AB1511	GAD 65&67, RBX-50UL
AB5084P	DOPAMINE RECEPT D2, RB X HU-50UG
MABN50	Anti-Olig2, clone 211F1.1
AB5541	GFAP, CHKX-50UL
AB1783	GLT-1, GP X-50UL
MAB1567	MYELIN ASSOC GLYCO, MSX-100UG R

明星表观遗传学抗体

07-449 | Anti-trimethyl-Histone H3 (Lys27) Antibody

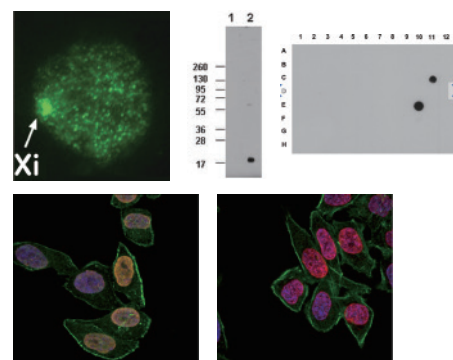
高文献引用率: trimethyl-Histone H3抗体文献引用率超过1000篇, 排名首位。

多种实验验证: ICC, IP, Mplex, WB, IHC, ChIP, ChIP-seq

高特异性抗体: 经过protein A纯化

性价比高: 200ug包装目录价5227 RMB。

提供多种荧光直标的抗体: -AF488, -AF647, -AF555



表观遗传学畅销抗体列表

Material Code	Material Desc.EN
07-449	A-TRIMETHYL-HIST (LYS27) H3 200UG
06-599	Anti-acetylated Histone H3
05-636	ANTI-PHOS-HIST H2A.X (S139) 200UG
07-473	A-TRIMETHYL-HIST H3 (LYS4)
05-665	A-BETA-CATENIN (AABC)PC12-301
06-866	ANTI-ACEL HIST H4, CHIPS GRD200UL
07-131	Anti-Sirt1
07-329	A-ACET-HIST H4(K16) 100UL
04-745	A-TRIMETH-HISH3 (K4),CL MC315 100
AB5535	SOX-9,RBX-100UG
07-442	ANTI-TRIMETH-HIST H3 (LYS9)100UG
MAB3120	CRE RECOMBINASE, MS X-100UL
AB9260	KI-67, RBX-500 UL

Material Code	Material Desc.EN
ST1202-1SETCN	Anti-PGC-1α Mouse mAb (4C1.3 1PC x 1SET)
07-352	A-ACETYL-HIST H3 (LYS9) 100UL
ABE572	Anti-N6-methyladenosine
06-570	ANTI-PHISTON H3 MITOSIS MKR 200UG
07-645	ANTI-SP1 100UG
07-353	A-ACETYL-HIST H3 (LYS14) 100UL
07-441	ANTI-DIMETHYL-HIST H3 (LYS9)100UG
05-257	ANTI-P300, CT- PC 12-309
05-623	A-RNA POLY II, CL CTD4H8 200UG
07-030	ANTI-DIMETHYL-HIST H3
04-1006	Anti-HIF-1 α, clone EP1215Y
NA81-50UGCN	Anti-5-Methylcytosine Mouse 1 PC

明星自噬抗体

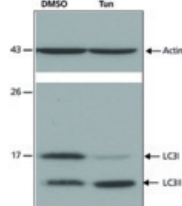
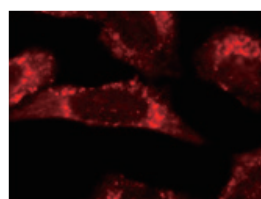
L7543 Anti-LC3B antibody

高文献引用率: 超过400篇引用文献。

多种实验验证: IF, WB等实验验证。

高抗体特异性。

提供100ul和200ul两个规格。

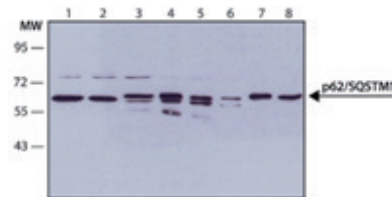
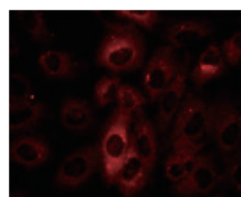


P0067-200UL Anti-p62/SQSTM1 antibody

多种实验验证: WB, IF, IP 等

性价比高: 200ul包装。

上百篇文献引用率。



畅销自噬和凋亡抗体列表

Material Code	Material Desc.EN
SAB4502329-100UG	Anti-AMPK α antibody produced in rabbit, affinity isolated antibody.
A7481-200UL	Anti-Atg1/ULK1, ~1 mg/mL, affinity isolated antibody, buffered aqueous solution.
A0731-200UL	Anti-Atg5 (C-terminal) 兔抗, ~1 mg/mL, affinity isolated antibody, Anti-ATG5 (C-terminal) antibody produced in rabbit.
A2856-200UL	Anti-ATG7 antibody, affinity isolated antibody, buffered aqueous solution.
SAB3500501-100UG	Anti-ATG9B antibody produced in rabbit, affinity isolated antibody, buffered aqueous solution.
A9356-200UL	Anti-ATG10 antibody produced in rabbit, ~1 mg/mL, affinity isolated antibody, buffered aqueous solution.
B0684-100UG	Anti-Bad antibody produced in rabbit, affinity isolated antibody, lyophilized powder.
B8429-.2ML	Anti-Bax antibody, Mouse monoclonal, clone 6A7, purified from hybridoma cell culture.
SAB4500003-100UG	Anti-BCL-2 antibody produced in rabbit, affinity isolated antibody.
B6061-200UL	Anti-Becclin 1 (N-terminal) 兔抗, IgG fraction of antiserum, buffered aqueous solution.
C8487-200UL	Anti-Caspase 3, Active antibody produced in rabbit, IgG fraction of antiserum, buffered aqueous solution.
PRS3465-100UG	Anti-Caspase-7 (ab1) antibody produced in rabbit, affinity isolated antibody, buffered aqueous solution.
L7543-100UL	Anti-LC3B antibody, affinity isolated antibody, buffered aqueous solution.
M7802-.2ML	MONOCLONAL ANTI-MAP KINASE, ACTIVATED &
P6749-200UL	Monoclonal Anti-p53 antibody produced in mouse, clone PAb1801, purified from hybridoma cell culture.
P0067-200UL	Anti-p62/SQSTM1 antibody produced in rabbit, ~1 mg/mL, affinity isolated antibody, buffered aqueous solution.

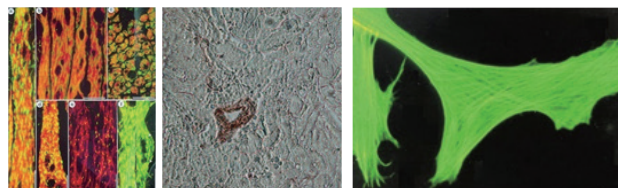
明星内参抗体

A5441 Anti-β-Actin antibody

多种属验证:已经在人,小鼠,大鼠,兔,牛等十几个种属中验证。

多种实验方法验证:IF, IHC, WB等

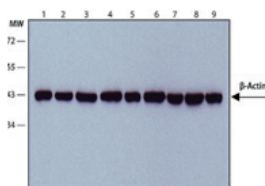
提供精美的实验结果



高文献引用率:文献引用率超过3400篇。

高稀释倍数:WB实验稀释倍数1:10000

多种包装规格:100ul, 200ul, 500ul



畅销抗体列表 (内参抗体)

货号	产品描述
A5044-.2ML	MOUSE MONOCLONAL ANTI-ALPHA ACTIN
A1978-200UL	ANTI-BETA-ACTIN ANTIBODY, MOUSE MONO&
A5441-.2ML	MONOCLONAL ANTI-B-ACTIN, CLONE AC-15
A8481-200UL	MONOCLONAL ANTI-GAMMA-ACTIN
A3853-200UL	ANTI-ACTIN, CLONE AC-40
T5168-.2ML	MONOCLONAL ANTI-A-TUBULIN, CLONE B-5-1-2
T6199-200UL	ANTI ALPHA-TUBULIN ANTIBODY, MOUSE MONO&
T9026-.2ML	MONOCLONAL ANTI-A-TUBULIN, CLONE DM 1A

货号	产品描述
T2200-200UL	ANTI-BETA TUBULIN III
T8660-.2ML	MONOCLONAL ANTI-B-TUBULIN ISOTYPE III, &
T5192-.2ML	ANTI-GAMMA TUBULIN, DEVELOPED IN RABBIT
G8795-100UL	MONOCLONAL ANTI-GAPDH, CLONE GAPDH-71.1
G9295-200UL	MONOCLONAL ANTI-GAPDH, PEROXIDASE CONJUG
L1293-200UL	ANTI-LAMIN A (C-TERMINAL) Antibody
SAB2108496-100UL	ANTI-VDAC1 Antibody

明星二抗

A9044 Anti-Mouse IgG (whole molecule) –Peroxidase antibody produced in rabbit

多种实验方法验证:WB, ELISA, IHC等

高稀释倍数:WB实验稀释倍数高达1:160000

高性价比:2ml包装,高稀释倍数。

多种标记:荧光标记,酶标记,生物素标记等

文献引用率超过350篇。

畅销抗体列表 (二抗)

货号	产品描述
A9044-2ML	ANTI-MOUSE IGG (WHOLE MOLECULE)
A4416-1ML	PEROXIDASE CONJUGATE-GOAT ANTI-MOUSE
A6782-1ML	PEROXIDASE CONJUGATE-SHEEP ANTI-MOUSE
A6154-1ML	PEROXIDASE CONJUGATE-GOAT ANTI-RABBIT
A0545-1ML	ANTI-RABBIT IGG (WHOLE MOLECULE)
F7512-.5ML	ANTI-RABBIT IGG (WHOLE MOLECULE) FITC
A8914-5ML	GOAT ANTI-RABBIT IGG(WHOLE MOLECULE)-AG
A5420-1ML	ANTI-GOAT IGG (WHOLE MOLECULE)

A0545 Anti-Rabbit IgG (whole molecule) –Peroxidase antibody produced in goat

多种实验方法验证:WB, ELISA, IHC等

高稀释倍数,高性价比:WB实验稀释倍数高达1:160000

多种标记:荧光标记,酶标记,生物素标记等

文献引用率超过500篇

货号	产品描述
A6907-1ML	PEROXIDASE CONJUGATE-GOAT ANTI-HUMAN
A9037-1ML	PEROXIDASE CONJUGATE-GOAT ANTI-RAT IGG
F1763-1ML	ANTI-RAT IGG (WHOLE MOLECULE)- FITC
A8917-2ML	ANTI-BOVINE IGG (WHOLE MOLECULE)
A9046-1ML	ANTI-CHICKEN IGY (IGG) (WHOLE MOLECULE)
A9042-2ML	ANTI-DOG IGG (WHOLE MOLECULE) PEROXIDAS
A5670-1ML	ANTI-PIG IGG (WHOLE MOLECULE) PEROXIDAS
A6917-1ML	PEROXIDASE CONJUGATE RABBIT ANTI-HORSE

更多抗体请查询默克官网: www.sial.com
或www.merckmillipore.com

检测

Immobilon® Western化学发光HRP底物

Immobilon® HRP化学发光底物是市售同类产品中性价比最高的，其fg级灵敏度和低廉的价格以及极为稳定的品质，让使用者的Western Blotting成功率有了坚实的保障。

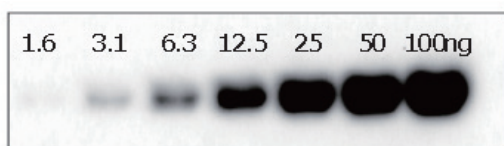
特别提示：由于Immobilon®-HRP化学发光底物灵敏度显著高于其它常见产品，我们建议您在原有操作条件基础上，将一抗稀释5倍同时二抗稀释2-5倍，以便获得合适的信号。

* Immobilon® HRP化学发光底物能在获得最佳信噪比的同时帮您节约更多宝贵的抗体。



Immobilon® ECL Ultra 超敏HRP底物

新上市的Immobilon® ECL Ultra HRP底物进一步提升了检测灵敏度，使检测达到低fg级，而且信号持续时间也相当长，整体表现超过同类产品。



纯化GAPDH蛋白质的检测

将纯化的GAPDH蛋白（Sigma®目录号SRE0024）连续稀释并使用快速半干转印系统将蛋白转印到Immobilon®-P膜上。利用SNAP i.d.® 2.0蛋白质检测系统，使用0.5%脱脂奶粉封闭印迹膜并使用按1: 100 ,000稀释的抗GAPDH一抗（目录号MAB374）和按1:10,000稀释的山羊抗小鼠二抗（目录号AP 1 2 4 P）探测印迹膜上的G A P D H 蛋白。然后，使用Immobilon® ECL Ultra底物孵育印迹膜5分钟，并在数字成像仪下曝光30秒。



**Immobilon® ECL
Ultra HRP
Substrate**

Competitor F

1 hr

3 hr

5 hr

Immobilon® ECL Ultra超敏HRP底物具有接近5小时的持续发光时间，方便根据需要灵活控制曝光时间，获得满意数据结果。

Luminata™ 预混Western化学发光HRP底物

化学发光HRP底物（辣根过氧化物酶底物，也常被称为ECL试剂）是目前Western blot检测中最为灵敏的试剂。

Luminata™系列HRP底物由三种预混型HRP底物组成，具有一些相较于同类产品更有优势的特点。

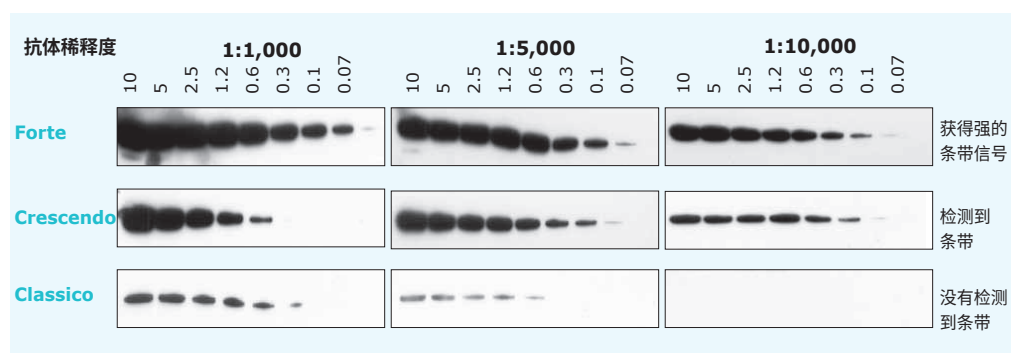
产品特点

- 检测灵敏度范围广
- 即用预混式设计，保证更好的数据重现性
- 在同一灵敏度级别中具有更好的性价比



选用灵敏度更高的HRP底物获得更好的数据，同时带来三重效益：

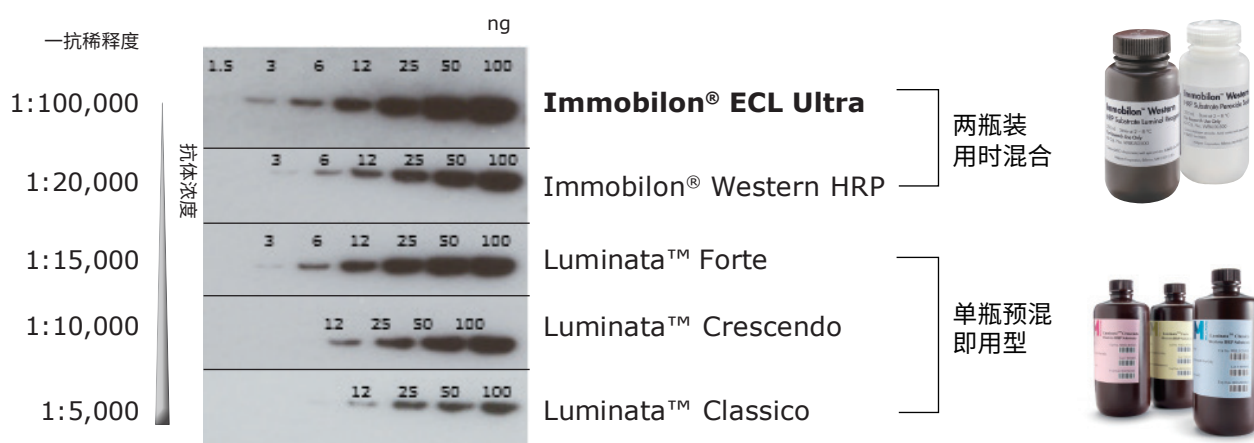
1. 更佳的结果：产生更强的条带信号便于进行定量印迹检测（比较抗体同为1:10,000稀释度时Luminata™ Crescendo 和Forte 底物所获得的不同条带强度）
2. 更快：仅需10min洗去原有底物换上新底物进行反应，比重新用2.5hr进行优化抗体孵育再显色省事得多
3. 更便宜：HRP底物的费用远远低于抗体的费用



用图示的不同上样量的A431细胞裂解液与不同浓度的anti-GAPDH抗体（目录号MAB374）孵育，再用相应二抗反应。采用不同Luminata™ HRP底物反应获得图示杂交结果，x-ray胶片曝光5 min

Millipore全系列HRP底物产品

产品名称	Luminata™ classico	Luminata™ crescendo	Luminata™ forte	Immobilon®	Immobilon® ECL Ultra
大致灵敏度下限	~6pg	~1-3pg	~400fg	~400fg	低fg
产品形式	预混单瓶装	预混单瓶装	预混单瓶装	两瓶装	两瓶装
信号持续时间	1小时	3小时	3小时	3小时	5小时
产品有效期	4 °C, 1年	4 °C, 1年	常温, 1年	4 °C, 1年	4 °C, 1年
工作液有效期	4 °C, 1年	4 °C, 1年	常温, 1年	4 °C, 7天	4 °C, 30天



目录号	产品名称	规格
WBULS0100	Immobilon ECL Ultra HRP Substrate	100mL
WBULS0500	Immobilon ECL Ultra HRP Substrate	500mL
WBKLS0050	Immobilon Western Chemilum HRP Substrate	50ml
WBKLS0100	Immobilon Western Chemilum HRP Substrate	100ml
WBKLS0500	Immobilon Western Chemilum HRP Substrate	500ml
WBLUR0100	Luminata Crescendo Western HRP Substrate	100ml
WBLUR0500	Luminata Crescendo Western HRP Substrate	500ml
WBLUC0100	Luminata Classico Western HRP Substrate	100ml
WBLUC0500	Luminata Classico Western HRP Substrate	500ml
WBLUF0100	Luminata Forte Western HRP Substrate	100ml
WBLUF0500	Luminata Forte Western HRP Substrate	500ml

*国内现货

ReBlot™ Plus 再杂交试剂盒

截至2011年初，已有超过2900篇技术文献引用ReBlot™ Plus

快速剥离试剂用于多轮Western blot检测

ReBlot™ Plus是什么？

ReBlot™ Plus试剂能高效地剥离结合在膜上的抗体。ReBlot™ Plus有“温和型”和“加强型”两种级别供选择。

- Re-Blot™ Plus温和型剥离试剂—硝酸纤维素膜和PVDF膜都适用
- Re-Blot™ Plus加强型剥离试剂—用于去除强信号，推荐在温和型剥离试剂还不够理想的情况下使用



产品特点

- 不含β-巯基乙醇，无难闻气味
- 室温操作，仅需15min
- 操作简便，满足快速多次抗体检测要求
- 无酸配方，减少蛋白降解（如Edman降解）风险

ReBlot™配合传统操作（左列）或SNAP i.d.®系统操作（右列）有效去除杂交信号，方便多次抗体检测。

两倍稀释的A431细胞裂解液经SDS-PAGE电泳分离并转印到Immobilon®-P膜上，孵育HSP70抗体（1:8,000，目录号MAB374，最上一行），按传统操作（左列）或SNAP i.d.®系统操作（右列）采用ReBlot™ Plus加强型试剂剥离处理15 min（中间一行），再与anti-actin抗体反应（1:8,000，目录号MAB1501，最下一行）。ReBlot™剥离抗体非常有效，继而获得了非常理想的actin印迹检测结果；即使两种一抗共用同一种抗小鼠二抗，效果依然令人满意。



目录号	产品名称	规格
2500	ReBlot Plus Western Blot Recycling Kit	1kit
2502	ReBlot Plus Mild Solution	50ml
2504	ReBlot Plus Strong Solution	50ml

*国内现货

解决方案：应对低丰度蛋白挑战

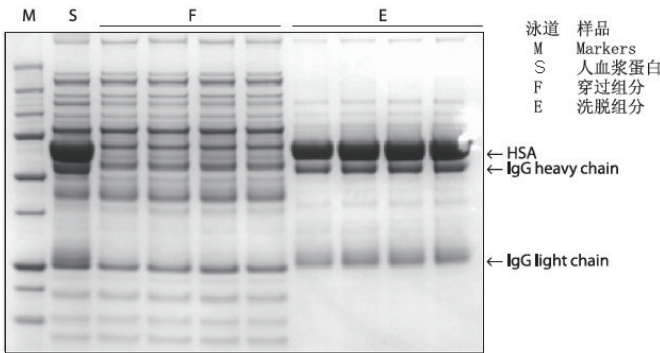
在Western Blot整个流程中，在以下关键步骤进行改善，可以事半功倍地提高低丰度蛋白的检测成功率。

样本制备：提高目标蛋白的丰度

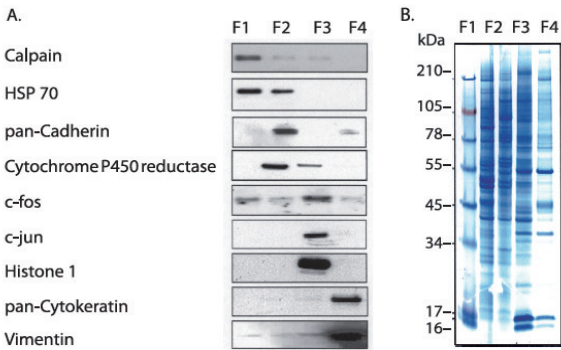
内源和外源蛋白酶是造成蛋白降解的最大风险，所以制备蛋白第一要务是在抽提时添加蛋白酶抑制剂混合物（如果是磷酸化蛋白检测则同时需要加上磷酸酶抑制剂混合物）。防止蛋白降解，不仅能提高检测成功率，更能避免蛋白部分降解带来的杂带，使数据可信度和重现性更好。

天然组织材料中蛋白成分复杂，丰度跨度大，而且以高丰度蛋白为主，为了提高低丰度蛋白的得率和相对含量，可以采用三类方案：

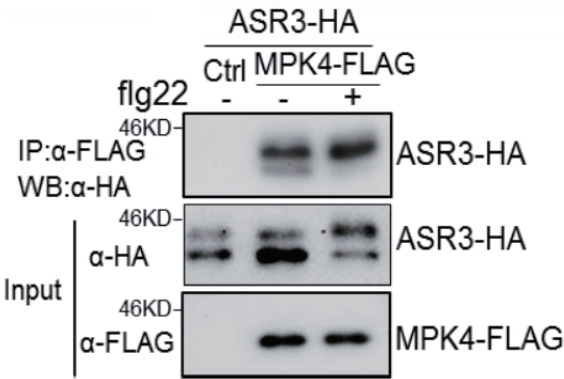
- **高丰度蛋白去除**：体液样本（如血清/血浆、腹水、脑脊液等）中IgG和白蛋白去除后，其它低丰度蛋白相当于富集了10倍以上，检测成功率显著提升
- **分部富集**：按照目的蛋白在组织/细胞中的分布特点进行组分富集，例如核蛋白、（跨）膜蛋白、骨架蛋白等，减少其它蛋白干扰，降低蛋白复杂程度
- **IP/coIP**：通过外源克隆重组表达或抗体亲和富集抗原，可以特异性地提高目的蛋白的丰度，同时减少背景，高品质的标签蛋白纯化树脂和磁珠以及Protein A/G是这类操作的关键



高效且重现性好地从血清样品中去除白蛋白/IgG
用ProteoExtract®白蛋白/IgG去除试剂盒（目录号122642）处理35μl人血清，每组分取15μg蛋白，经SDS-PAGE电泳，考马斯亮蓝染色后经光密度分析可知，使用本试剂盒可以去除样品中88%±5%以上的血清白蛋白及90%±4%的IgG。



S-PEK(目录号539790)分部抽提的四个亚细胞组分经分析证明各有特征性的蛋白
A：选择性标志蛋白免疫印迹结果证明哺乳动物组织培养细胞各亚细胞蛋白质组分80%以上能够有效分离。为检测c-fos，电泳前蛋白进行免疫沉淀。
B：S-PEK抽提贴壁培养组织细胞各亚细胞蛋白组分，经聚丙烯酰胺凝胶电泳分析证明，各组分都有特征性的蛋白。各组分如下：F1，细胞质组分；F2，细胞膜和细胞器组分；F3，可溶的核组分；F4，细胞骨架组分



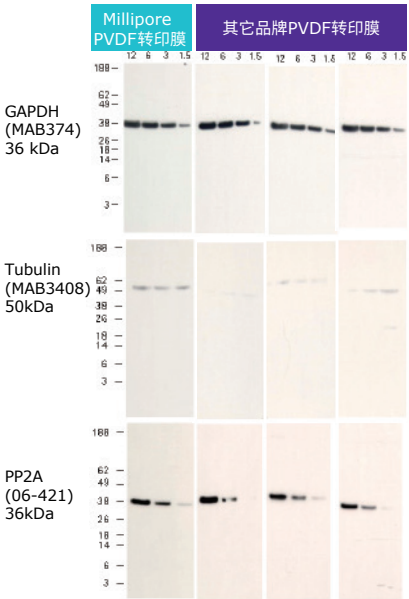
FLAG®/HA标签蛋白的IP及WB检测
FLAG和HA都是非常小的标签，常被用来做融合蛋白表达，以在细胞环境中研究目的蛋白复合物或蛋白间相互作用，却对研究对象的干扰降到最低。FLAG标签蛋白的IP最常用磁珠（目录号M8823），HA的纯化多采用亲和琼脂糖（目录号A2095），如果FLAG和HA串联纯化，则推荐采用试剂盒TP0010。

目录号	产品描述	产品类别
122642	ProteoExtract® Albumin/IgG remove kit	高丰度蛋白去除试剂盒
539790	ProteoExtract® Subcellular Proteome Extraction Kit	亚细胞蛋白质组抽提试剂盒
71772-3	ProteoExtract® Transmembrane extraction kit	跨膜蛋白抽提试剂盒
FLAGIPT1	FLAG® Immunoprecipitation Kit	FLAG标签蛋白IP试剂盒

*国内现货

高效转印

PVDF膜作为转印膜在上世纪80年代被Millipore开发出来，并在Western Blot中替代NC膜已经有很长的历史了，其中一个重要的原因就是PVDF膜的载量远远高于NC膜，例如品质好的Millipore NC膜蛋白载量可以达到BSA 160 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ，而0.45 μm 的Immobilon®-P载量为BSA215 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ，0.2 μm 的Immobilon®-P^{SQ}蛋白载量更达到340 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。更高的蛋白载量，使低丰度蛋白有更多的机会被印迹到转印膜上从而提高了检测成功率。需要注意的是，即使同为0.2 μm 孔径的转印膜，其它品牌市售产品的载量与Millipore的Immobilon-P^{SQ}还是有着显著差异。



- 采用更好品质的转印膜有助于稳定获得WB数据，提高重现性，并在数据之间有更好的可比性
- 高载量Immobilon®-P^{SQ} PVDF转印膜是低丰度蛋白检测的首选
- 高丰度蛋白检测推荐经典的Immobilon®-P PVDF转印膜，减少高背景困扰

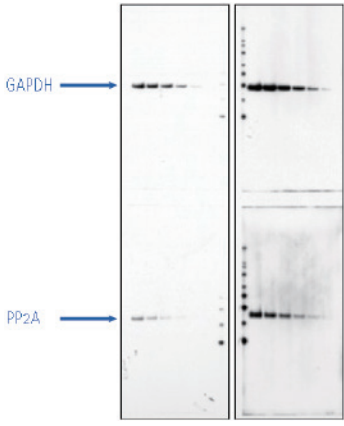
免疫信号增强和超敏底物

Millipore在默克成立350年之际集中推出了两款WB突破性产品，极大地改善了低丰度蛋白的检测成功率。

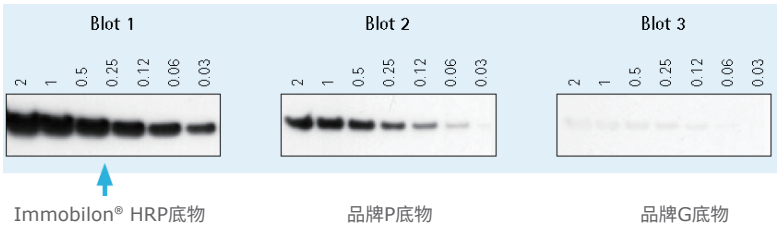
Immobilon® enhancer免疫信号增强试剂：替代传统的蛋白类封闭剂可以减少背景，并通过促进抗体与抗原特异性结合而显著减少抗体用量，增强信号

Immobilon®-ECL Ultra超敏底物：

- 为低fg级超高灵敏度的HRP化学发光底物，用于极富挑战的低丰度蛋白的检测；
- 常规检测也可以大幅度节约宝贵的抗体



以Immobilon免疫信号增强试剂替代普通封闭剂和抗体稀释液，轻松提高低丰度蛋白检测信号，效果稳定、显著。



目录号	产品描述	产品类别
IEVH00005	Immobilon®-E transient hydrophilic PVDF, 26.5cmx1.875 m(提供中文说明书)	即用型PVDF转印膜
IPVH00005	Immobilon®-P PVDF 26.5cmx1.875m, 0.45 μm	PVDF转印膜
ISEQ00005	Immobilon®-P ^{SQ} , 26.5cmx1.875m, 0.2 μm	小蛋白专用PVDF转印膜
WBSH0500	Immobilon® Signal Enhancer 500ml(提供中文说明书)	免疫信号增强试剂
WBKLS0500	Immobilon® Chemilum HRP Substrate 500ml	高敏HRP底物
WBULS0100	Immobilon® ECL Ultra HRP Substrate 100ml(提供中文说明书)	超敏HRP底物

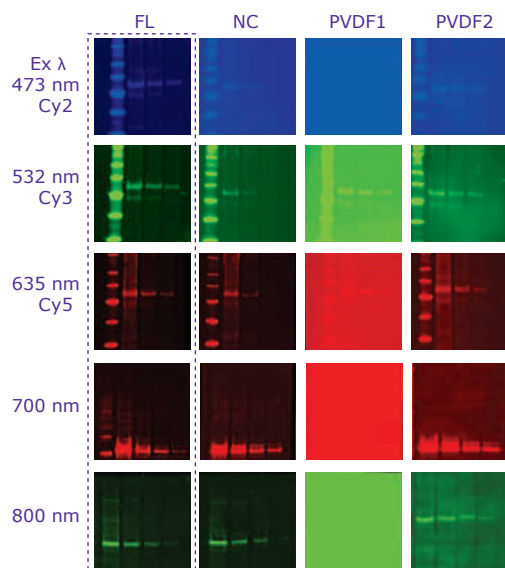
*国内现货

解决方案：荧光法Western

荧光法Western blot检测因具有多重检测的方便性而变得越来越受研究者的欢迎，但这种检测仍需要专门优化的工具来获得理想的实验结果。这里我们推荐一个最佳组合，以帮助大家在荧光检测中快速获得稳定、易重复的数据。

应用摘要

Immobilon®-FL荧光专用转印膜



截至2011年初，关于Immobilon®-FL的引用文献已超过9,000多篇

为什么Immobilon®-FL转印膜具有优异的性能？

这种0.45 μm膜是最早被设计用于荧光WB检测的转印膜。自身超低荧光背景保证了在任何荧光检测中，这种膜都能通过降低背景而提高检测的灵敏度。

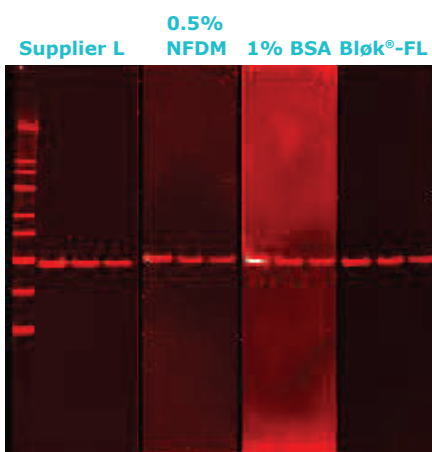
产品特点

- 是市售产品中唯一可用于近红外波长（700-800nm）范围检测的转印膜
- 蛋白载量更大、吸附力更好带来更强的反应信号
- 背景极低，用于检测低丰度样品时优势更加显著
- 很好的韧性便于多次杂交操作

欢迎访问www.millipore.com/FLWestern了解更多详细信息。

Bløk®-FL荧光报告专用封闭剂： 显著减少噪音背景

封闭印迹膜上所有非特异性结合位点对于避免高背景至关重要。蛋白类的封闭剂，如脱脂奶，覆盖在膜表面，本身会与抗体发生非特异性结合。而且，由于蛋白降解、微生物污染等容易使这些封闭剂变质，而造成性能不稳定。



Bløk®-FL 是如何改善实验结果的？

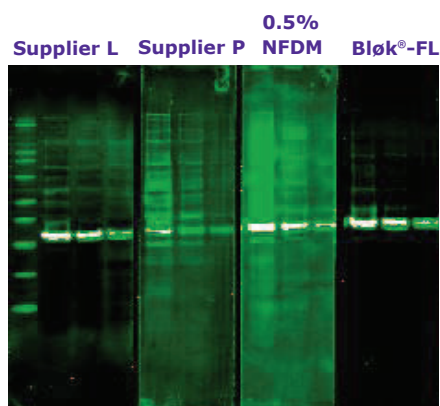
这种无蛋白化学试剂作为封闭剂不会像牛奶一样在膜表面形成厚而粘稠的一层，对降低背景非常有效。

Bløk®-FL保证最好的信噪比

经系列稀释的 EGF刺激的A431细胞的裂解液样品上样（2-0.5μg/道，12-110），两个Immobilon®-FL印迹膜采用图示的封闭剂封闭，抗体检测：(A)1:10,000, anti-GAPDH抗体（目录号MAB374）；(B)1:2,000 anti-Actin抗体（目录号MAB1501），采用图示的封闭剂稀释抗体。二抗采用抗小鼠IgG抗体(A)IRDye680或(B)IRDye800，真空干燥1小时后用Odyssey®扫描仪（LI-COR）扫描。

产品特点

- 荧光Western检测专用优化配方，显著降低背景
- 即用型试剂，方便直接取用
- 室温下稳定达2年
- 膜经荧光检测后还可以继续用于染色

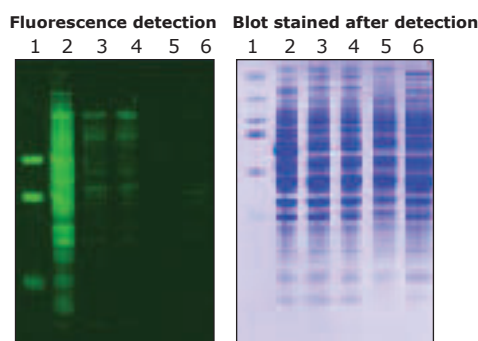


目录号	产品描述	规格
WBAVDL01	Bløk®-FL Reagent for fluorescence detection	500 mL
IPFL0010	Immobilon®-FL Membrane, 0.45µm	1 roll
IPFL07810	7 x 8.4 cm	10/pk
IPFL10100	10 x 10 cm	10/pk

*国内现货

不再只为考染而多跑一次胶

Bløk®封闭剂与Immobilon®-PVDF膜组合使用可以使同一张膜在荧光检测后继续用于染色，保存数据。



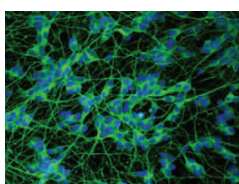
荧光检测后染色

A431细胞裂解液检测，其中包括新鲜制备样品（跑道2-4）和以前的样品（跑道5-6），统一以总蛋白10µg/跑道上样（左）。采用Bløk®-FL封闭，anti-phosphotyrosine抗体（克隆号4G10）荧光检测。5和6在两种检测中信号均明显弱于3和4。在检测后采用考马斯亮蓝染色（右）能帮助发现是否有上样差异及转膜过程中的差错带来问题。

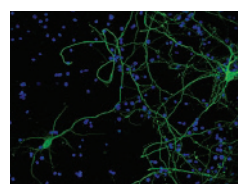
荧光标记抗体

Merck 提供品种繁多的荧光标记二抗，这些高质量的产品在免疫荧光（IF），免疫组织化学（IH），流式细胞（FC）等检测应用中表现卓越。这些抗体包括各种种属来源的Ig或抗体片段（如Fc或Fab），以不同的荧光基团（包括FITC，DyLight®，Cy染料及罗丹明（TRITC））等标记。查看我们提供的所有二抗及同型对照请访问

www.millipore.com/antibodies。



显示SH-SY5Y 细胞用Hoechst HCS 进行和染色（蓝色）和 Anti-βIII tubulin 抗体（目录号05-559）/FITC标记的驴抗小鼠二抗（目录号AP191F）的结合信号（绿色）



显示大鼠 cortex primary neurons (E18) 用DAPI染色（蓝色）和 Pan Neuronal Marker（目录号MAB2300）/FITC标记的山羊抗小鼠二抗（目录号AP181F）标志的信号（绿色）

精选二抗订购信息

*国内常备现货

目录号	产品名称	规格
IPFL10100	Immobilon-FL 10x10cm sheet 10/pk PVDF 0.45µm	10
IPFL20200	Immobilon-FL 20x20cm sheet 10/pk PVDF 0.45µm	10
IPFL00010	Immobilon-FL 26.5cm x3.75m Roll PVDF 0.45µm	1
IPFL07810	Immobilon-FL 7x8.4cm sheet 10/pk PVDF 0.45µm	10
WBAVDL01	Blok - FL Fluorescent Blocker, 500mL	500ml
AP124F	Goat anti-Mouse, FITC conjugate	2 mg
AP182C	Donkey anti-Rabbit, Cy3 conjugate	500 µg
AP192C	Donkey anti-Mouse, Cy3 conjugate	500 µg
AP182B	Donkey anti-Rabbit, Biotin conjugate	500 µL
AP181SD	Goat anti-Mouse IgG, DyLight® 649 conjugate	500 µg
AP192SD	Donkey anti-Mouse IgG, DyLight® 649 conjugate	500 µg

目录号	产品名称	规格
AP132JD	Goat anti-Rabbit IgG, DyLight® 488 conjugate	2 mg
AP132F	Goat anti-Rabbit, FITC conjugate	2 mg
AP192F	Donkey anti-Mouse, FITC conjugate	500 µg
AP132C	Goat anti-Rabbit, Cy3 conjugate	2 mg
AP182F	Donkey anti-Rabbit, FITC conjugate	500 µg
AP180C	Donkey anti-Goat, Cy3 conjugate	500 µg
AP124C	Goat anti-Mouse, Cy3 conjugate	500 µg
AP307F	Goat anti-Rabbit, FITC conjugate	1 mL
AP308F	Goat anti-mouse, FITC conjugate	1 mL
AP193P	Donkey anti-Guinea Pig, HRP conjugate	500 µL
AP147P	Rabbit anti-Sheep, HRP conjugate	1.5 mL

解决方案：磷酸化蛋白检测

蛋白磷酸化是一种可逆的翻译后加工，在细胞内信号传递中有非常重要的功能。采用 Western Blotting 技术检测磷酸化蛋白是探讨信号传导中上游调控、下游功能调整、信息交流及反馈机制等的基本手段。Merck 提供专用的优质试剂和研究方法，帮助你获得准确、灵敏的磷酸化检测数据。



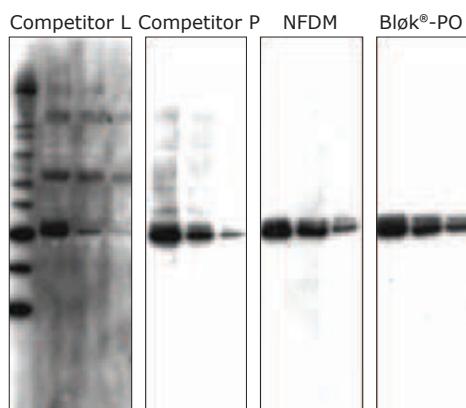
应用摘要

Bløk®-PO 磷酸化检测专用封闭剂

封闭印迹膜上非特异性蛋白结合位点对于降低背景、获得有意义的数据极为重要。尽管牛奶仍是目前最常用的封闭剂，但其中的磷酸化哺乳动物蛋白会带来很高的背景。基于此，采用非蛋白来源的封闭剂对于磷酸化蛋白检测是更为理想的选择。

Bløk®-PO 是如何改善检测效果的？

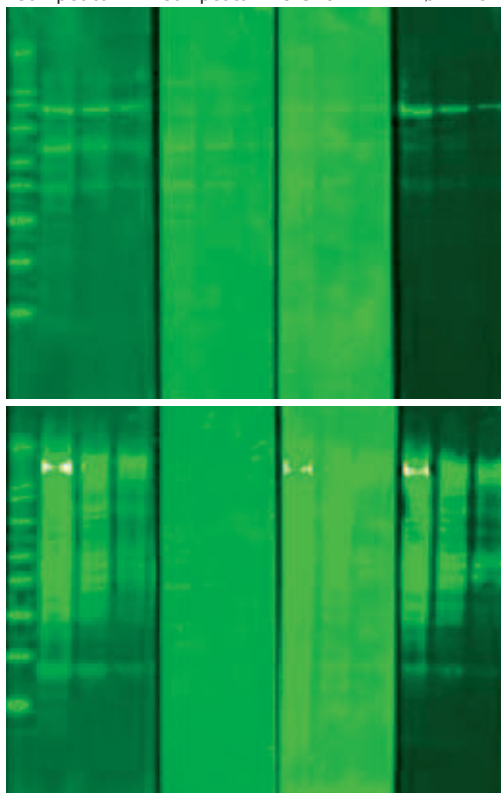
这种化学试剂型封闭剂内含磷酸酶抑制剂有利于保持待检测蛋白的磷酸化状态。



EGF刺激的A431细胞裂解液（10 – 2.5 µg/道，目录号12-110）中pERK的化学发光法检测

用Bløk®-PO进行封闭，再以Bløk®-PO稀释的 anti-pERK抗体（1:10,000，目录号05-797R）孵育，Luminata™ Forte Western HRP底物（目录号WBLUF0500）检测
NFDM = 脱脂奶粉

Competitor L Competitor P 0.5%NFDM Bløk®-PO



Bløk®-PO检测磷酸化蛋白效果最佳

荧光法检测：将系列稀释的经EGF刺激的A431细胞裂解液（20-2.5 µg/道，目录号12-110）电泳分离，转印至 Immobilon®-FL膜。采用不同封闭剂封闭，并与以相应封闭剂稀释 anti-phosphoserine抗体（克隆号4A4，1:400，目录号05-1000，上）或 anti-phosphotyrosine抗体（克隆号4G10，1:400，目录号05-321，下）孵育，二抗采用抗小鼠IgG抗体IRDye800 conjugated（1:1,000，目录号926-32210）。真空干燥1小时后用 Odyssey®扫描仪（LI-COR）扫描。

产品特点

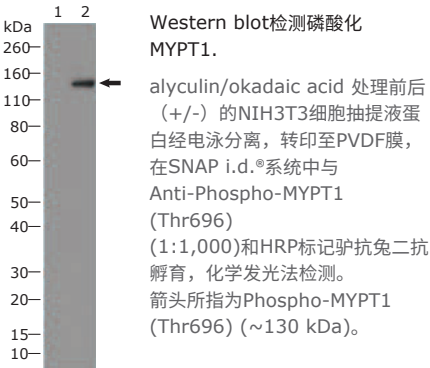
- 无蛋白配方，显著降低背景，改善蛋白检测效果
- 含有磷酸酶抑制剂，保持待检测蛋白的磷酸化状态完好
- 无需为考马斯亮蓝染色额外跑一次电泳
- 性质稳定，室温可存放1年以上
- 不用制备，即用方便

磷酸化抗体

Merck 提供品类众多的抗体，其中包括超过600种优质的磷酸化特异性检测抗体。这些抗体是探索生物信号通路传导中磷酸化现象的有力工具。

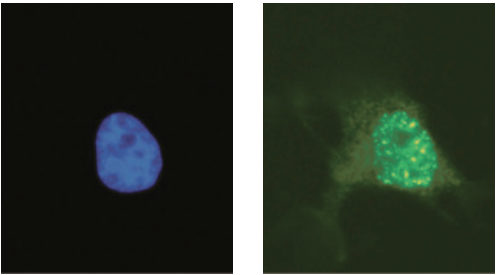
Anti-phospho-MYPT1 抗体 (Thr696) (目录号ABS45)

Myosin phosphatase target subunit 1 (MYPT1) 调节 GTPase Rho下游的肌动蛋白与肌球蛋白的相互作用, 其中 GTPase Rho通过Rho激酶抑制Myosin磷酸酶。MYPT1的磷酸化抑制了Myosin轻链磷酸酶, 导致平滑肌收缩相关的钙离子的灵敏化。MYPT1位于应力纤维(stress fiber), 分布于细胞膜附近以及胞间连接处, 调节肌球蛋白磷酸酶活性。



Anti-phospho-Histone H2A.X (Ser139)抗体, 克隆号JBW301

组蛋白H2A.X Ser139位点的磷酸化是细胞遭受DNA损伤时的早期事件。磷酸化的H2A.X帮助启动针对双链结构破坏的DNA修复机制, 最后招募p53, 而使细胞周期暂停, 完成修复。



在经历DNA损伤的细胞中检测phospho-Histone H2A.X

以细胞毒性试剂etoposide处理Jurkat细胞, 再以anti-phospho-Histone H2A.X抗体 (Ser139, 目录号 05-636, 克隆号JBW301) 进行检测 (绿色, 右); 以DAPI进行DNA染色 (左)。

目录号	产品名称	规格
71296-3	*国内现货 Phosphosafe Extraction Reagent	25ml
524625-1SET	*国内现货 Phosphatase Inhibitor Cocktail Set II	1set
524629-1SET	*国内现货 Phosphatase Inhibitor Cocktail Set V,50X	1set
539722-1KIT	ProteoExtract Phosphopeptide TiO ₂ Enrichment kit	1kit
WBAVDP001	*国内现货 Bløk - PO Phosphoprotein Blocker, 500mL	500mL
05-321	Anti-Phosphotyrosine, clone 4G10	100 µg
05-636	Anti-phospho-Histone H2A.X (Ser139)	200 µg
06-519	Anti-phospho-CREB (Ser133)	100 µL
AB3849	Anti-phospho-Smad2, (Ser465/467)	100 µL
05-1000	Anti-phosphoserine, clone 4A4	100 µg
09-142	Anti-phospho-ACK1 (Tyr284)	100 µL
05-740	Anti-phospho-ATM (Ser1981), clone 10H11.E12	200 µg
ABS45	Anti-phospho-MYPT1 (Thr696)	200 µg
05-677	Anti-phospho-Src (Tyr416), clone 9A6	100 µg
04-1073	Anti-phospho-GluR1 (Ser845), clone EPR2148	100 µL

常见问题与改善建议

化学发光检测

现象	可能的原因	改善建议
信号弱	封闭剂不合适	封闭剂可能与目的蛋白有亲和性而干扰了检测。换用别的封闭剂和/或减少封闭剂的用量及孵育时间
	抗体反应时间不够	增加孵育时间
	抗体浓度太低或抗体失活	多次冻融及细菌污染的抗体溶液其低度和活性都会受影响。可增加抗体浓度或重新新鲜制备抗体溶液
	检测试剂过期失效	使用新鲜或存储得当的底物，过期底物灵敏度会降低
	蛋白转移问题	优化蛋白转移操作
	生色反应检测时用的是干膜	如果在生色检测系统中得到的信号太弱，可能是膜干透了的原因。尝试将膜在水中再浸湿以加强对比
	自来水使生色试剂失活	采用Milli-Q®水制备相关试剂
	叠氮化物抑制了HRP	印迹试剂中避免出现叠氮化物
	抗原量过低	加大电泳的抗原上样量
无信号	抗体浓度过低	增加一抗和二抗的浓度
	HRP被抑制	HRP标记抗体不能在含有叠氮化钠的溶液中使用
	一抗采用天然蛋白制备	以非变性胶电泳分离蛋白，或采用变性抗原制备的抗体
印迹不均匀	膜上有指纹，折痕或镊子的夹痕	避免直接用手接触膜，不要折叠，使用手套和平头镊子操作
斑点背景	封闭剂发生聚集	用0.2µm或0.45µm Millex® 针头式过滤器过滤封闭剂
	HRP标记抗体发生聚集	用0.2µm或0.45µm Millex® 针头式过滤器过滤二抗溶液
高背景	漂洗不充分	增加漂洗液体积和漂洗次数。用Millex®针头式过滤器或Steriflip™预过滤器过滤包括转移缓冲液在内的所有溶液
	（酶标）二抗浓度过高	增加抗体稀释度
	发生蛋白-蛋白相互作用	在漂洗液和反应液中加入Tween-20（0.05%）以尽量减少发生蛋白交互并提高信噪比
	使用Immobilon®-P ^{5Q} 转印膜	这种转印膜表面积更大，需要相应提高封闭剂的浓度和体积。可以通过向漂洗缓冲液中加入高达0.5M NaCl和0.2% SDS以及延长漂洗时间到2小时来降低顽固的背景
	试剂质量差	尽量采用高质量的试剂并以Milli-Q®水配制
	封闭剂与抗体发生交叉反应	尝试换一种封闭剂或在漂洗缓冲液中添加Tween-20
	过度曝光	缩短曝光时间
	孵育过程中膜干掉了	在孵育过程中确保使用的试剂足量
	抗体质量差	选用经亲和纯化过的高质量抗体
	检测试剂过量	曝光前将膜控干
持续的背景	非特异性结合	采用高盐溶液洗（可在PBS或TBS补加0.5% NaCl及0.2% SDS）
高背景深 （快速免疫检测法）	快速检测中膜已经湿透了	将抗体稀释液中的Tween-20降至<0.04% 孵育过程中温和地振摇 电转移结束后在Milli-Q®水中浸洗膜以去除所有来自胶中的SDS。将膜完全干透再进行后续的检测操作
	免疫检测前膜在甲醇中预湿过	不要将膜进行预湿
	免疫显色前膜没有干透	操作前确保膜已干透
	非特异性结合	
非特异性结合	一抗浓度过高	增加一抗稀释度
	二抗浓度过高	增加二抗稀释度
	抗原量过高	减少蛋白上样量

现象	可能的原因	改善建议
反像	HRP标记二抗过量	降低HRP标记二抗的浓度
小分子蛋白检测效果差	小分子蛋白被大分子封闭剂（如BSA）掩蔽	考虑换用酪蛋白或低分子量聚乙烯吡咯烷酮(PVP)
		将Tween和Triton X-100等表面活性剂应减至最小量
		避免与抗体及漂洗液孵育次数过多

荧光检测

现象	可能的原因	改善建议
整体高背景	转印膜本身产生高荧光背景	使用荧光成像专用Immobilon®-FL PVDF转印膜
多蛋白分析的问题	实验设计问题	两种抗体必须是不同物种来源的，这样可以用两种不同的二抗加以区分。在同时使用两种一抗之前应该单独测试每个抗体的反应情况，确定条带的位置。在双色检测中使用已去除交叉反应的二抗
斑点背景	膜表面有颗粒杂质或尘埃	戴无尘手套拿取印迹膜，保证扫描仪表面清洁
信号弱	湿膜	将印迹膜干燥可能提高信号强度。膜再润湿也可再次扫描。扫描时不要用塑料袋或Saran膜包裹印迹膜
	印迹被光漂白了	尽管荧光染料通常可以产生较长时间持续稳定的信号，也有些荧光染料容易被光漂白。为了避免出现光漂白，在二抗孵育及漂洗过程中均需避光操作，直至将膜进行扫描。将已扫描过的膜妥善存避光保存，以备以后成像之用
	激发波长或发射滤镜出错	根据染料供应商产品说明进行印迹成像

《蛋白印迹技术手册》

96页，印制精美，WB高手必备，内容包括：

基本原理·操作详解·经验技巧·疑难解答·常用工具

内容提要：

- 蛋白印迹技术简介
- 膜的选择及影响蛋白结合的因素
- 印迹方法：原理与优化，Western印迹
- 电转印技术：影响蛋白成功转移的因素
- 影响免疫检测的因素

常见问题与改善建议

经验之谈：从容应对高难度Western Blotting

实例分析与建议

专家之选——Western Blotting常用工具

操作详解

- 蛋白转印的操作
- 蛋白观察的操作
- 免疫检测的操作
- 剥离膜上抗体的操作
- 蛋白消化的操作
- 印迹膜保存的操作



*请留意当季默克产品促销活动以获得免费印刷版

细胞培养常用产品

为了使您的研究发现具有最高的影响力且最能反映生物体内的真实情况，那么您就必须一开始就使用最高质量的细胞和组织。默克的无菌过滤器，细胞培养皿和自动化的细胞计数系统为您提供功能强大、高重复性、无污染的细胞和组织培养基。

单个无菌包装



Millex® 针头式滤器

无菌 Millex® 针头式过滤器特别适合处理小体积样品 (0.1-200mL)，例如抗生素或添加剂的过滤，使用极为方便。Millex® 以其综合优秀品质和稳定的质量长久以来作为行业金标被研究者广泛采用和信赖，成为无菌过滤环节的首选产品。4、13、25、33 和 50mm 适合处理不同体积的样品。截留体积极小，样品损失少。膜材质优秀，过滤速度快而蛋白吸附损耗小。各种进口 / 出口接头设计，方便上下游配套。

产品描述	目录号
Millex 33mm PES 0.22µm	SLGP033RB
Millex 33mm PES 0.45µm	SLHP033RB
Millex 33mm PVDF 0.22µm	SLGV033RB
Millex 33mm PVDF 0.45µm	SLHV033RB
Millex 4mm PVDF 0.22µm	SLGV004SL
Millex 13mm PVDF 0.22µm	SLGV013SL
Millex 25mm MCE 0.22µm w/ Vented	SLGSV255F
Millex 50mm PTFE 0.2µm NS	SLFG05000

* 提供 50, 100, 250, 1000 个 / 包等多种包装形式，最大程度节约成本。

经干细胞培养验证！



Stericup® 和 Steritop® 过滤装置

Stericup® 和 Steritop® 过滤装置是最值得信赖的细胞培养基、缓冲液及试剂的无菌过滤工具。Stericup® 由一个过滤组件及一个带盖的接收瓶组合而成，便于过滤和储存，回收率非常高。Steritop® 瓶顶式过滤装置可与瓶口直径为 33mm 或 45mm 的接收瓶配套使用。

产品描述	目录号
Steritop®-GP 1000mL PES 0.22µm	SCGPT10RE
Steritop®-GP 500mL PES 0.22µm	S2GPT05RE
Steritop®-GV 500mL PVDF 0.22µm	SCGVT05RE
Steritop®-GP 250mL PES 0.22µm	SCGPT02RE
Stericup®-GP 1000mL PES 0.22µm	SCGPU11RE
Stericup®-GP 500mL PES 0.22µm	S2GPU05RE
Stericup®-VP 1000mL PES 0.10µm	SCVPU11RE
Stericup®-GP 250mL PES 0.22µm	SCGPU02RE
Stericup®-GP 500/1000mL PES 0.22µm	SCGPU10RE
Stericup®-HV 1000 PVDF 0.45µm	SCHVU11RE

*12个/箱

Millicell® 悬挂式细胞培养小室

- 用于细胞共培养、细胞迁移实验、药物渗透性实验等
- 独特的设计使上下两侧操作都非常方便，减少对细胞的损害和污染，也很适合频繁地独立操作
 - 全部为 PET 膜材质，有 5 种膜孔径和 3 种膜面积（适合不同多孔板）的产品供选择；其中 1µL 孔径的是透明的，特别推荐用于光学观察
 - * 另提供站立式和器官培养型小室。



Millicell® 24 和 Millicell® 96 嵌套式细胞培养板及组件

提供 24 孔或 96 孔板形式（含盖子、膜板、接收板），方便进行中通量及高通量研究。有 PCF 及 PET 两种膜，孔径多样，包括 0.4µm, 1µm, 3µm, 5µm 及 8µm。精心的设计使操作更方便，配合电阻仪使用，进行 Caco₂ 等高通量实验获得稳定的最佳效果。



细胞精确计数 Scepter™ 手持式细胞计数器

采用业界公认的“计数金标准”库尔特电阻抗原理，通过感应器精准吸取 50µL 样品，并通过计算样品中的每一个细胞，达到极好的重复性和精准的计数结果，携带方便，操作简单。

- 库尔特原理精确计数 (CV<5%)
- 3-36µm 范围 14 秒快速计数
- 便携式设计，可以在超净台内使用
- 直观的直方图结果，快速掌握细胞健康状态
- 强大的软件，获得丰富的数据



取得Western blotting成功的关键工具

有效抽提， 保证蛋白完整性

- ProteoExtract® 蛋白抽提试剂盒
- 蛋白酶抑制剂混合物
- FLAG® Tag 亲和纯化琼脂糖/磁珠
- Amicon Ultra 超滤管
- Direct Detect® 蛋白定量仪

电泳与转印

- TruPAGE™ 预制胶
- Immobilon® PVDF转印膜
- 预染marker

封闭与抗体孵育

- Western验证优质抗体
- Bløkk® Noise小分子封闭剂
- Immobilon® 免疫信号增强试剂
- SNAP i.d.® 2.0 加速器

灵敏的检测与再杂交

- Luminata™ 预混型系列 HRP底物
- 超高灵敏度Immobilon® ECL Ultra HRP底物
- ReBlot™ Plus温和型和加强型抗体剥离试剂



蛋白酶抑制剂混合物
SigmaFAST™ 和 Roche 的 cOmplete™ 蛋白酶抑制剂用于抽提过程中保护蛋白的完整性



免疫信号增强试剂
低丰度蛋白成功检测的保障，节约抗体



Western Blotting 抗体

超过9万种优质抗体
HPA金标抗体更多验证数据支持



Immobilon® 转印膜

获得目的蛋白最佳印迹信噪比



Immobilon® 化学发光 HRP底物

最高性价比，fg级灵敏度pg级价格



SNAP i.d.® 2.0加速器

使封闭-漂洗-抗体结合操作
缩短至30分钟



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：CN201805-WB01