



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 010-58437227 82598075

Fax: 010-82597807

[http:// www.real-tims.com.cn](http://www.real-tims.com.cn)

Western 无蛋白快速封闭液

Protein Free Rapid Blocking Buffer for WB

Ver 7200657

● 产品组成:

货号	名称	规格	保存条件
PF1070-100ml	Western 无蛋白快速封闭液	100 ml	2-8℃
PF1070-500ml	Western 无蛋白快速封闭液	500 ml	2-8℃
	说明书	一份	

● 产品简介:

本产品专为快速高效封闭 Western Blot 转印膜而设计，采用无蛋白配方，避免抗体与封闭剂的非特异结合，最大程度地降低了背景。同时，本封闭剂无内源的磷酸化蛋白及生物素，对磷酸化特异抗体及生物素检测也不会产生干扰。本封闭剂不与蛋白产生非特异性结合，因而只封闭膜而不会屏蔽样品蛋白的抗体识别位点，大大提高了抗体检测灵敏度。实验表明，本封闭剂对许多抗体都有不同程度的信号增强作用。然而这种信号增强作用因抗体而异，对某一特定抗体，并不一定具有确定的信号增强作用。

注意：没有任何一种封闭剂能适合所有抗原和抗体的检测系统。如出现本试剂不适合的抗体，请替换使用其它种类的封闭剂如 BSA 或脱脂奶粉等。

● 贮存:

2-8℃贮存，有效期一年。

● 注意事项:

1. 快速高效：10-60 min 内完成封闭；只结合封闭转印膜而不结合蛋白，因此不会屏蔽样品蛋白的抗体识别位点，与传统的脱脂奶粉和 BSA 封闭相比信噪比更高；
2. 方便快捷：无需稀释，即取即用；
3. 性能可靠：无蛋白配方，与抗体无交叉反应；
4. 应用范围广：无磷酸化蛋白，无生物素，尤其适合磷酸化特异抗体及生物素检测系统；
5. 节省抗体：使用本封闭剂后，所需的最适抗体浓度低于常规使用浓度，可大大节省抗体使用量。
6. 与 PVDF 膜相比，NC 膜需要更长时间的封闭。

● 使用说明:

1. 本产品无需稀释，开盖即用。
2. 完成转膜后，使用 TBST 漂洗转印膜 3 次，每次 5 分钟；

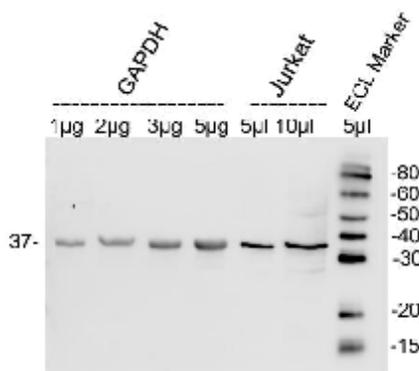
3. 将转印膜放入到杂交孵育盒中，加入 10-20 ml 无蛋白快速封闭液完全覆盖转印膜，置于摇床轻轻摇动，参考下表确定封闭时间：

膜类型	推荐封闭时间	反应温度
PVDF 膜	10-20 分钟	常温 25 度
NC 膜	40-60 分钟	常温 25 度

注意：使用本产品，PVDF 膜和 NC 膜使用推荐封闭时间，经多种抗体的测试封闭效果显著优于常规的 BSA 封闭 1 h。对于一些背景非常高的抗体，可以尝试延长封闭时间。如有特殊需要，也可 4℃ 封闭过夜。

4. 封闭结束后弃去封闭液，进行 Western Blot 后续操作。

● 实验示例：



Jurkat 细胞总蛋白 GAPDH 检测

凝胶：12%T3.3C SDS-PAGE (Cat:RTD6132-12)

电泳条件：200 V 1×TGS 40-12 mA 53 min

转膜条件：NC 膜，1×RealBlot 快速转膜液(Cat:RT5020)

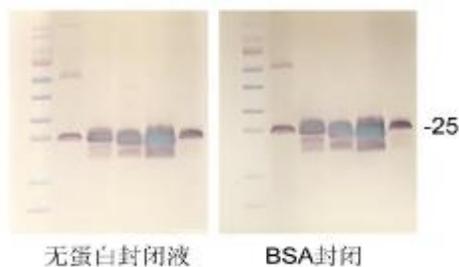
恒流 400 mA 35 min 65-59 V

封闭：无蛋白封闭液 (Cat: PF1070) RT 60 min

一抗：兔 GAPDH 多抗(Cat: RGA1040) 1:2000 过夜 4℃孵育

二抗：羊抗兔 IgG-HRP(Cat: RGA1040) 1:5000 RT 60min

ECL 发光：RealECL 发光液 (Cat:EC2520) 10 秒曝光



植物叶绿体 Lhca3 检测

Electrophoresis: 10% RealPAGE SDS Electrophoresis(RTD6148)

Transfer: 1×RealBlot transfer buffer(Cat:RT5020)

350 mA blotting to NC membrane for 30 min.

Blocking: 无蛋白封闭液 (Cat:PF1070) RT for 20 min;BSA at RT for 1 h.

Primary antibody: Lhca3 (Cat:RGL2080) 1:2000 dilution at RT for 1h

Secondary antibody: 1:5000 dilution using Goat Anti-Rabbit IgG AP (Cat:AGR1030)

Detection: using BCIP/NBT(Cat:BN1026) at RT for 5 min