



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

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

E-mail: real-times@vip.163.com

脱脂奶粉（封闭级）

Ver.760755-1.0

● 产品组成：

货号	名称	规格
WN1070P-01	脱脂奶粉（封闭级）	100 g
WN1070P-02	脱脂奶粉（封闭级）	500 g

● 产品简介：

Western Blot 实验中，为防止印迹膜与检测系统中的抗体发生非特异性吸附，导致抗体检测出现非特异性结合，通常在进行一抗孵育前需预先对印迹膜上的非特异结合位点进行封闭。

本产品为经过严格验证筛选后可用于 WB 封闭用的脱脂奶粉（封闭级），可快速高效地封闭膜上多余的结合部位，减少非特异结合情况的产生，降低检测背景，适用于各种转印膜的封闭，操作方便快捷。由于奶粉中含有微量的磷酸化蛋白（见实验示例），然而经过严格测试，该产品可用于绝大多数磷酸化抗体的检测，不会出现交叉反应。如果实验发现用该产品封闭出现非特异条带干扰实验结果，请换用 BSA 封闭液（WP1080）封闭。奶粉中含有生物素，该封闭液不能用于 Streptavidin/Biotin 系统。

● 贮存、效期及运输：

常温密闭保存，注意防潮；有效期 2 年；常温运输。

● 使用说明：

1. 5%奶粉封闭液配制方法：

取 2.5 克奶粉，加入 50 ml 1×TBST，彻底溶解后，4℃贮存。开盖后如有异味或有絮状沉淀，表明已经失效，不能继续使用。

注：不建议用 5%奶粉封闭液用于稀释一抗或二抗，多次实验发现，对于一些效价低的抗体，使用该封闭液稀释抗体，会降低抗体的识别效率，导致 ECL 检测时条带变弱，影响检测结果。

2. 目的蛋白转移完毕后，将印迹膜放入容器中，加入适量封闭液完全覆盖印迹膜。

3. 常温孵育 1 小时，必要时可 4℃孵育过夜。

4. 封闭结束后弃封闭液，进行 Western Blot 后续操作。

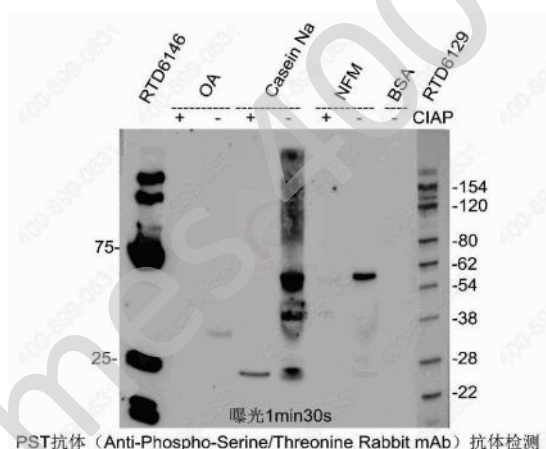
● 实验示例：

1. WN1070P 考马斯亮蓝染色检测：



4-15% SDS-PAGE 变性电泳后考染检测
Casein Na 酪蛋白钠盐（封闭级）（CR1020）
OA 卵清蛋白（纯化，Ovalbumin）（LB0120）
NFM 脱脂奶粉（封闭级）（WN1070P）

2. WN1070P PST 抗体检测：



样品：OA Ovalbumin 卵清蛋白（LB0120）；Casein Na 酪蛋白钠盐（封闭级）（CR1020）；NFM 脱脂奶粉（封闭级）（WN1070P）；BSA 牛血清白蛋白（封闭级）（BA0333）；

样品脱磷酸化处理：50 μl 酶解体系含 100 μg 蛋白，加 50 U CIAP（5 μl），5 μl 10×CIAP buffer，水补齐到 50 μl，37 度 60 min，加 4×LD（变性还原）25 μl，25 μl 水，此时上样液 100 μl（1 μg/μl），BSA 未脱磷酸化处理：四种蛋白样品均 70 度 10 min 处理，上样 10 μl/10 μg；凝胶：4-15%RealPAGE Tris-Glycine 预制胶（RTD6119-0415-15），1×TGS 200 V 35-18 mA 50 min；转膜：0.45 μm PVDF 膜，e-blot 转膜仪，恒流 800 mA 15 min；封闭：3%BSA（WB1070）常温封闭 1 小时；一抗：PST（Anti-Phospho-Serine/Threonine Rabbit mAb），1:1000（通用型抗体稀释液 WU1090 稀释）四度一小时；二抗：羊抗兔 IgG-HRP（HGR1020，）1: 5000（1×TBST 稀释）RT 一小时；检测：RealECL 发光液（EC2520）曝光 1min30s；

- 结果：1. OA 在 CIAP 处理后信号完全消失说明其 PST 抗体信号具有明确的磷酸依赖性，OA 是低磷酸化蛋白；
2. Casein Na 在 CIAP 处理后绝大多数信号消失，只残余 25 kDa 信号，说明 Casein Na 是高磷酸化蛋白，蛋白结构中存在酶难以完全去除但抗体仍可识别的磷酸化簇；
3. 奶粉在未经 CIAP 处理前，仅仅检测到 60 kD 的磷酸化蛋白，说明脱脂奶粉中磷酸化蛋白含量不高，经 CIAP 处理后信号几乎完全消失；
4. BSA 中没有磷酸化蛋白