



巴傲得 WB 基础辅助试剂套装

WB 轻松入门套装

套装货号：BD-WBKIT01

精选 10 款常用辅助试剂，覆盖裂解、电泳、转膜、孵育与显影

适合常规总蛋白 Western Blot 实验的一站式基础辅助试剂组合

产品使用说明书

适用于 Western Blot 实验的样本处理、电泳、转膜、封闭、抗体孵育、洗膜与化学发光检测



1. 套装组成

收到产品后请按下表核对套装配置；若发现包装异常、漏液或数量不符，请及时联系巴傲得生物。

功能模块	产品编号	产品名称	规格
样本处理	BD0031	RIPA 裂解液	50T
样本处理	BD0033	PMSF 蛋白酶抑制剂	500 µL
上样处理	BD0034-3	SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液 5×（还原）	5 mL
电泳体系	BD0061	10×电泳缓冲液	500 mL
转膜体系	BD0070	10×转膜缓冲溶液	500 mL
洗膜体系	BD0066	25×TBS 漂洗缓冲液	500 mL
洗膜体系	BD0056	吐温 20	10 mL
抗体孵育	WBA2400-R1	WB 封闭液（总抗）	50 mL
抗体孵育	WBA2400-R3	一抗稀释液（总抗）	50 mL
信号检测	BLH02SCM	超敏型 ECL 发光液	20 mL

到货检查

- 核对货号、品名、规格与数量。
- 确认包装完好，无明显漏液或破损。
- 按标签要求及时分类保存。

使用提醒

- 本说明书提供推荐使用条件，实际可按样本与抗体特性优化。
- 实验过程中请全程佩戴实验防护用品。
- 仅限科研使用，不用于临床诊断。

快速选择与推荐参数

实验环节	推荐条件	优化提示
封闭	室温 30-60 min	高背景可延长封闭；弱信号避免过度封闭
一抗	4°C过夜	抗体效价高时可提高稀释倍数
洗膜	TBST 3 次，每次 5-10 min	背景高可增至 4-5 次
二抗	室温 45-60 min	避免浓度过高造成非特异背景
ECL	反应 1-3 min 后成像	先短曝光，再逐级延长



2. 使用前准备与样本处理

实验前确认

- 凝胶浓度、膜材及转膜方式与目标蛋白分子量匹配。
- 裂解、离心及定量尽量在低温条件下完成。
- PMSF 现用现加；磷酸化检测同步加入磷酸酶抑制剂。

配制重点

- 10×电泳液按 1:10 稀释；25×TBS 按 1:25 稀释。
- TBST 推荐吐温 20 终浓度 0.05%-0.1%。
- 5×上样液与样本按 1:4 混合至终浓度 1×。

常用工作液配制

工作液	配制方法
1×电泳液	10×母液按 1:10 用纯水稀释。
1×转膜液	10×母液按 1:10 稀释，并按实验方案加入甲醇。
1×TBS/TBST	25×TBS 按 1:25 稀释；再加入吐温 20 至 0.05%-0.1%。
1×上样液	5×上液本按 1:4 混合。
PMSF	加入裂解液后尽快使用，常用终浓度 1 mM。

3. 推荐实验流程：样本裂解与上样

01 样本裂解

- 样本预冷后加入适量 RIPA 裂解液。
- 加入 PMSF；磷酸化检测时同步加入 1×磷酸酶抑制剂。
- 冰上裂解 20-30 分钟，4℃高速离心取上清并定量。

02 变性与上样

- 样本与 5×还原型上样缓冲液按 4:1 混合。
- 95℃加热 5-10 分钟，短暂离心后上样。

样本处理参考与记录

项目	推荐范围	记录/提示
裂解液用量	细胞：按培养面积或细胞量优化	保证样本完全浸润并充分裂解
蛋白上样量	常用 10-40 μg/孔	低丰度蛋白可适当增加
变性条件	95℃ 5-10 min	膜蛋白/易聚集蛋白可降低温度
离心条件	4℃高速离心 10-15 min	取澄清上清，避免吸入沉淀



4. 推荐实验流程：电泳至显影

03 SDS-PAGE 电泳	- 加入 1×电泳液，先低压通过浓缩胶，再提高电压完成分离。 - 当溴酚蓝前沿接近胶底时停止电泳，避免过度跑胶。
04 转膜	- PVDF 膜先甲醇活化；NC 膜可直接平衡。 - 按海绵-滤纸-胶-膜-滤纸-海绵顺序组装并排尽气泡。 - 根据分子量优化转膜条件并注意降温。
05 封闭	- 使用 WBA2400-R1 总抗封闭液。 - 室温轻摇 30-60 分钟，全程避免膜面干燥。
06 一抗孵育	- 使用 WBA2400-R3 总抗一抗稀释液。 - 按抗体说明书推荐比例稀释，4°C轻摇孵育过夜。
07 洗膜二抗	1×TBST 洗膜 3 次，每次 5-10 分钟。 - 二抗按说明书推荐比例稀释，室温孵育 45-60 分钟。 - 孵育后再洗膜 3-5 次。
08 ECL 显影	- 按标签说明混合 ECL 工作液，覆盖膜面反应 1-3 分钟。 - 先短曝光，再逐步延长，避免信号饱和。

快速选择与推荐参数

实验环节	推荐条件	优化提示
封闭	室温 30-60 min	高背景可延长封闭；弱信号避免过度封闭
一抗	4°C过夜	抗体效价高时可提高稀释倍数
洗膜	TBST 3 次，每次 5-10 min	背景高可增至 4-5 次
二抗	室温 45-60 min	避免浓度过高造成非特异背景
ECL	反应 1-3 min 后成像	先短曝光，再逐级延长

转膜条件优化参考

目标蛋白	优化方向	注意事项
低分子蛋白	缩短转膜时间或提高甲醇比例	防止蛋白穿膜，可优先选择 0.2 μm 膜
中等分子蛋白	采用实验室常规转膜条件	重点排除气泡并保持均匀接触
高分子蛋白	延长转膜、降低甲醇或加入少量 SDS	控制温度，避免电流过高导致发热



5. 注意事项 / 常见问题 / 保存说明

关键注意事项

- 裂解、离心及蛋白定量尽量在低温环境下进行。
- 封闭液与一抗稀释液需与抗体类型匹配；磷酸化检测优先使用专用体系。
- 洗膜不足会导致高背景，洗膜过度可能削弱弱信号，应根据实际结果优化。
- ECL 工作液建议现配现用，发光后应尽快完成成像。

保存与运输

- 各单品的保存温度、避光要求及有效期以瓶身标签为准。
- 需低温保存的试剂使用后应及时放回规定温度，避免长时间室温暴露。
- 工作液原则上现配现用；如需暂存，建议先进行小规模稳定性验证。
- 仅限科研使用，不用于临床诊断或治疗。

常见问题与处理

现象	建议处理
无条带或信号弱	检查转膜方向与转膜效率；确认一抗/二抗种属是否匹配；可适当提高上样量或延长曝光。
背景过高	降低抗体浓度；延长洗膜时间或增加洗膜次数；检查封闭体系是否匹配。
条带拖尾或弥散	减少上样量；充分裂解并去除不溶物；确认样本已充分变性。
出现多条杂带	提高一抗稀释倍数或缩短孵育时间；优化封闭条件；选择更高特异性抗体。
局部无信号	排查转膜气泡、膜面干燥、ECL 覆盖不均或成像时膜面褶皱。

结果判读与质量控制检查

内参稳定	条带在线性范围	阴性/阳性对照合理
同批本强度不明常；常时需复核上样量与转膜。	避免曝光饱和；定量分析应使用未饱和图像并保持相同曝光参数。	建置已知性本和必要性照，便于判断抗体特异性。