

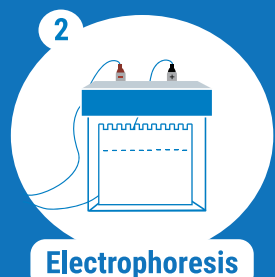
Western Blot Tools

西方墨點法工具





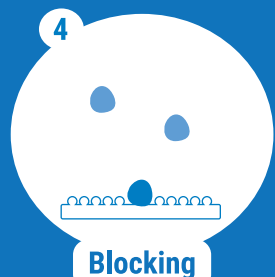
Sample Preparation



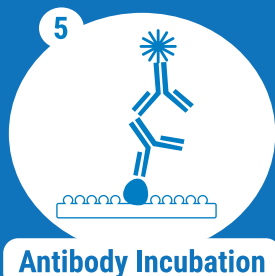
Electrophoresis



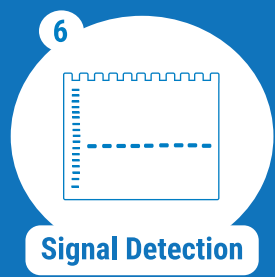
Transferring



Blocking



Antibody Incubation



Signal Detection

Western Blot Tools

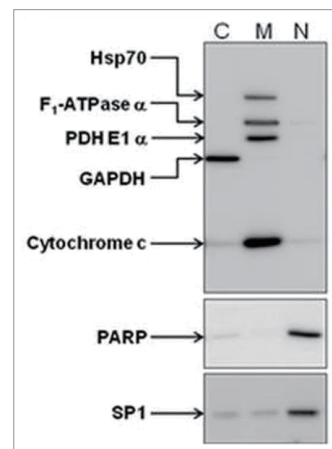
西方墨點法 (Western Blot, 以下簡稱 WB) 是分子生物學、生物化學和免疫遺傳學中常用以檢測蛋白質表現量的實驗方法，伯森嚴選的 WB 實驗工具長期以來深受廣大科研實驗室與生技公司所信賴，具有豐富的文獻紀錄以及高效穩定的產品性能，協助您獲取清晰、靈敏、可重複的優質實驗結果。

01	樣本製備 Sample Preparation	3
	1. 蛋白萃取試劑 (Protein Extraction Reagents)	
	2. 蛋白酵素抑制劑 (Protease Inhibitor Cocktails)	
	3. 蛋白定量 (Protein Quantification)	
02	電泳分離 Electrophoresis	4
	1. 蛋白質標記 (Protein Markers)	
	2. 蛋白質膠體染色試劑 (Protein Stain)	
	3. 電泳系統 (Electrophoresis System)	
03	轉漬 Transferring and 阻斷 Blocking	5
	1. 蛋白質轉漬膜與濾紙 (Membrane and Filter)	
	2. 轉漬系統 (Tank Transfer Units and Semidry Blotters)	
	3. 染劑與阻斷液 (Staining And Blocking Buffer)	
04	抗體反應 Antibody Incubation	6
	1. WB 驗證一級 / 二級抗體 (Primary and Secondary Antibodies)	
	2. Loading Control 抗體 (Loading Control Antibodies)	
05	訊號偵測 Signal Detection	7
	1. Western Lightning™ Series ECL 冷光試劑	
	2. 抗體脫附試劑 (Stripping Buffer)	
06	WB Checklist	8

01. 樣本製備 Sample Preparation

1. 蛋白萃取試劑 (Protein Extraction Reagents)

Product name	Size	Cat#
Cell Fractionation Kit – Standard	1Kit	ab109719
Mitochondria/Cytosol Fractionation Kit	25, 100Tests	ab65320
Mitochondria Isolation Kit for Cultured Cells	1Kit	ab110170
Plasma Membrane Protein Extraction Kit	50Tests	ab65400
Lysosome Isolation Kit	50Tests	ab234047
Microsome Isolation Kit	50Tests	ab206995
Nuclear Extraction Kit	100Tests	ab113474
10X RIPA Buffer	15mL	ab156034
Native lysis Buffer	15mL	ab156035
Red Blood Cell (RBC) Lysis Buffer (10x)	100mL	ab204733



Cell Fractionation Kit – Standard (ab109719)

2. 蛋白酵素抑制劑 (Protease Inhibitor Cocktails)

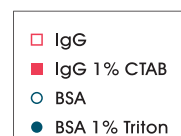
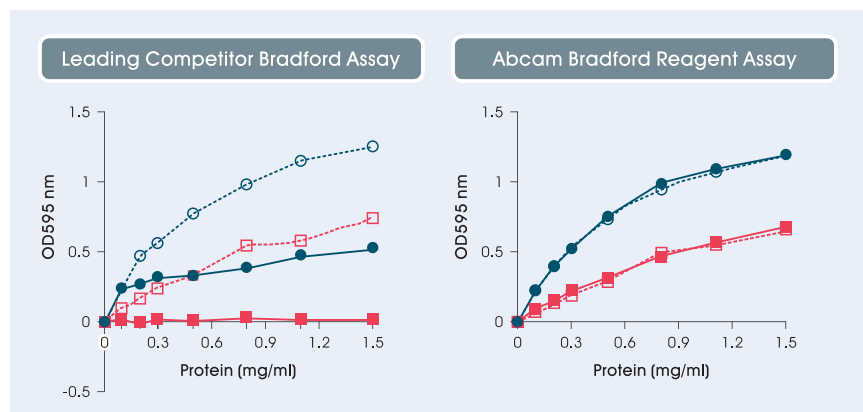
Product name	Size	Cat#
Protease Inhibitor Cocktail (100X)	3, 10, 30mL	ab271306
Protease Inhibitor Cocktail EDTA Free (100X)	3, 10, 30mL	ab270055
Phosphatase Inhibitor Cocktail I	1mL	ab201112



產品目錄

3. 蛋白定量 (Protein Quantification)

Product name	Size	Cat#
BCA Protein Assay Kit	1000Tests	ab102536
Bradford Reagent	500mL	ab119216



Abcam Bradford Reagent is not affected by the detergents compared to leading competitor "Coomassie Protein Assay" which are subject to the high background noise at 595 nm in the presence of detergents.

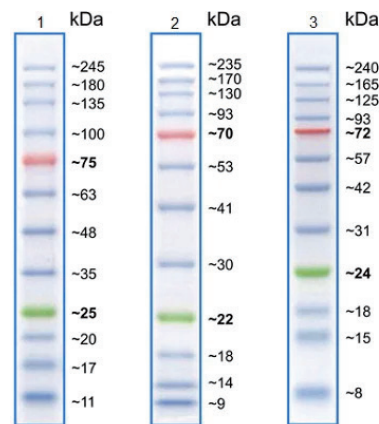
02. 電泳分離 Electrophoresis

1. 蛋白質標記 (Protein Markers)

Product name	Size	Cat#
Prestained Protein Ladder - Broad molecular weight (10 - 245 kDa)	500µL	ab116028
Western Blot Marker Pen	1Unit	ab166858



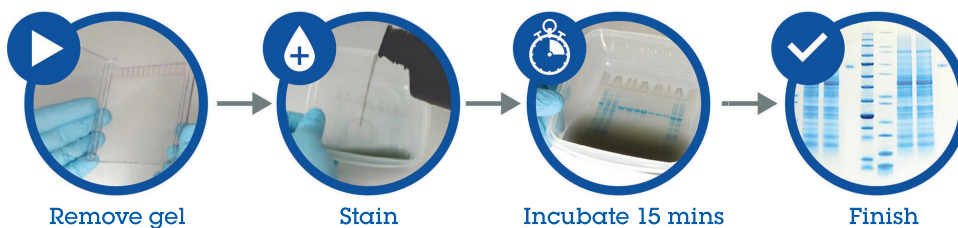
產品頁面



Prestained Protein Ladder – Broad molecular weight (10-245 kDa) (ab116028)

2. 蛋白質膠體染色試劑 (Protein Stain)

InstantBlue® Coomassie Protein Stain (ISB1L) (ab119211)



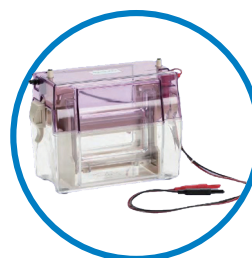
產品頁面

- **快速便利**：只要 15 分鐘就能迅速呈現清晰的染色結果，無須固定、清洗、脫色或加熱。
- **高效靈敏**：5 ng BSA 即可偵測，且 10 x 10 cm 膠體僅需 25 ml 用量。
- **相容於質譜儀技術**：蛋白質可於脫色後 (destain) 進行質譜儀 (MS) 分析。

3. 電泳系統 (Electrophoresis System)

伯森提供垂直電泳槽，具有膠體回收溝槽，以回收齒梳鑄型時流出之電泳膠，避免污染桌面。另外也有迷你垂直電泳槽，適用各式預製膠體。

歡迎洽詢伯森業務專員，以取得完整產品資訊。



V-GES 垂直電泳槽



Mini V-GES
迷你垂直電泳槽

03. 轉漬 Transferring and 阻斷 Blocking

1. 蛋白質轉漬膜與濾紙 (Membrane and Filter)

Product name	Cat#	
PolyScreen PVDF, 0.45 µm, 26.5cm x 3.75m	PK-NEF1002	
Protran Nitrocellulose Hybridization Transfer Membrane, 0.45 µm, 30 cm x 3.5 m	PK-NBA085C	
Filter Paper, 0.35mm, 40 x 55 cm	DNA-GFP001	



2. 轉漬系統 (Tank Transfer Units and Semidry Blotters)

具有半乾式、濕式兩種款式可選，可搭配垂直電泳系統使用。

Product name	Cat#
濕式轉漬槽 E-Blotter complete system - 可搭配「V-GES 垂直電泳槽」進行轉漬實驗，不需額外購買轉漬槽外殼 - 每次可同時進行兩片膠片轉漬 - 電極板採易拆卸設計，以方便實驗室自行維護保養	 WT-1030201
半乾式轉漬槽 Yrdimes, Semi-dry transfer unit - 適用於各種核酸及蛋白質轉漬應用 - 正極為鍍白金鈦電極板，負極採不鏽鋼設計	 WT-1073003

3. 染劑與阻斷液 (Staining and Blocking Buffer)

Product name	Size	Cat#
Ponceau S Solution	1000mL	ab270042
10X Blocking Buffer	50mL	ab126587

04. 抗體反應 Antibody Incubation

1.WB 驗證一級 / 二級抗體 (Primary and Secondary Antibodies)

優質抗體找伯森！Abcam 以先進製程與嚴謹驗證成為抗體領導品牌，累積數十萬篇引用文獻，提供逾 60,000 種高品質抗體。更多產品與優惠，歡迎洽詢台灣代理—伯森生技。



2.Loading Control 抗體 (Loading Control Antibodies)

在進行 WB 實驗時，建議同時偵測 Loading Controls 以校正 Well 與 Well 之間、膠片與膠片之間樣本量的誤差。可以參考下表選擇最適合您樣本的 loading control 抗體 (蛋白種類與大小僅供參考，會依實際實驗狀況而有差異)：



kDa	Whole Cell	Mitochondrial	Nuclear	Membrane	Cytoskeleton	Serum
125	Vinculin (125kDa)					
110				NaK ATPase (110kDa)		
75						Transferrin (75kDa)
66			Lamin B1 (66kDa)			
60		HSP60 (60kDa)				
55	α -Tubulin (55kDa)				α -Tubulin (55kDa)	
50	β -Tubulin (50kDa)		HDAC1 (55kDa)		β -Tubulin (50kDa)	
42	Actin (42kDa)				Actin (42kDa)	
40	β -Actin (40kDa)				β -Actin (40kDa)	
35	GAPDH (35kDa)		TBP (35kDa)			
30		VDAC1/Porin (30kDa)	PCNA (30kDa)			
24	Cyclophilin B (24kDa)				Actin (42kDa)	
20	Cofilin (20kDa)	COX IV (20kDa)			Cofilin (20kDa)	
15			Histone H3 (15kDa)			

05. 訊號偵測 Signal Detection

1. Western Lightning™ Series ECL 冷光試劑

Western Lightning™ 系列冷光試劑具有優異的品質以及合理的售價，超過 15,000 篇文獻採用，是本公司長年暢銷不墜的明星商品之一。

Product name	靈敏度	Cat#
Western Lightning™ Plus (基本款)	1–10 picogram	PK-NEL105
Western Lightning™ Pro (進階款)	Low picogram	PK-NEL112
Western Lightning™ Ultra (超靈敏款)	Low femtogram	PK-NEL113



更多
Western Lightning™
ECL 冷光試劑介紹

超靈敏款 Western Lightning™ Ultra – (PK-NEL113)

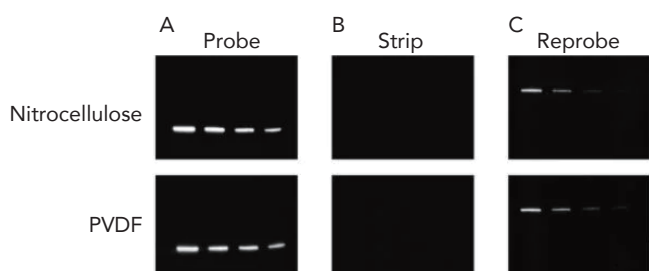
靈敏度達 Femtogram 等級 (10^{-15} g)，大幅減少樣本和抗體用量。訊號穩定持久，維持長達 8 小時。

Western Lightning Ultra	Competitor A (Maximum-sensitivity Substrate)
Signal duration (min)	Signal duration (min)

2. 抗體脫附試劑 (Stripping Buffer)

適用於 nitrocellulose 及 PVDF 膜，均勻去除 Western blot 上的抗體，在 25 分鐘內即可重新以不同抗體進行檢測。

Product name	Size	Cat#
Western Blot Stripping Buffer	500mL	ab28569



HeLa 細胞裂解液 (4、2、1 及 0.5 µg) 以抗 GAPDH 抗體進行檢測後 (圖 A)，使用 Western Blot Stripping Buffer 即可得到乾淨、無訊號殘留的膜 (圖 B) 後續再以其他抗體進行檢測 (圖 C)。

WB Checklist

使用【Western Blot 實驗檢查清單】時，請於確實做到的部分打✓，沒有實施的部分打X，以便後續排查原因。

	關鍵控制點	具體操作注意事項	完成？	
樣本製備	了解目標蛋白，選擇正確的樣本	確認目標蛋白質在待測細胞或組織樣本中是否表現	☐	電泳膠體濃度對照表
		確認目標蛋白質的細胞定位（細胞膜、細胞質、細胞核）	☐	
		確認目標蛋白質是否需要經過誘導處理才能大量表現	☐	
		確認目標蛋白質是否具有轉譯後修飾	☐	
		確認目標蛋白質是否存在有其他異構物	☐	
		確認目標蛋白質是否不穩定、容易降解	☐	
	避免目標蛋白降解	在裂解緩衝液中添加 Protease Inhibitor Cocktails	☐	
		涉及轉譯後修飾的，已添加相應的去修飾酶抑制劑	☐	
		樣本全程置於冰上	☐	
	萃取目標蛋白質	依據目標蛋白質特性選用裂解緩衝液	☐	
使用超音波破碎處理細胞		☐		
測定樣本蛋白質濃度	使用 Bradford 或 BCA 等方式測定樣本蛋白質濃度	☐		
電泳分離	選用合適的蛋白質樣本變性條件	95° C 加熱 5~10 分鐘	☐	Loading Control 對照表
		〔多重跨膜蛋白〕 37° C 或 70° C 加熱 10 分鐘	☐	
	選用合適的電泳膠體濃度	目標蛋白質分子量 ，分離膠體濃度	☐	
	確保蛋白質樣本上樣量充足	>20 µg 總蛋白	☐	
	設立實驗對照組	陽性對照 ，陰性對照	☐	
		Loading Control	☐	
轉漬	依據目標蛋白分子量大小調整轉漬緩衝液的 SDS 與 Methanol 濃度	目標蛋白質	☐	Protein Size Gel 4–40 kDa 20% 12–45 kDa 15% 10–70 kDa 12.50% 15–100 kDa 10% 25–200 kDa 8%
		目標蛋白質 >100 kDa，轉漬緩衝液含 10% Methanol、0.1% SDS	☐	
	選用合適的 PVDF 轉漬膜	目標蛋白質 <10 kDa，使用 0.2 µm 孔徑 PVDF 轉漬膜	☐	
		最終偵測訊號為螢光型式，使用低螢光背景值 PVDF 轉漬膜	☐	
	檢視轉漬效率	使用麗春紅對轉漬膜進行染色，確認轉漬效率	☐	
阻斷	選用合適的阻斷液	依據抗體說明書或文獻，選用阻斷液	☐	Protein Size Histone H3 ● 15 kDa COX IV ● 17 kDa Cofilin ●● 19 kDa Cyclophilin B ● 24 kDa PCNA ● 29 kDa VDAC1/Porin ● 31 kDa Cdk4 ● 34 kDa GAPDH ● 37 kDa TBP ● 38 kDa Actin ●● 42 kDa β-Actin ●● 42 kDa YY1 ● 45 kDa β-Tubulin ●● 49 kDa α-Tubulin ●● 50 kDa HDAC1 55 kDa HSP60 ● 60 kDa Lamin B1 ● 66 kDa NaK ATPase ● 113 kDa Vinculin ● 124 kDa ● Whole Cell ● Cytoskeleton ● Membrane ● Nuclear ● Mitochondrial
		依據自行測試結果，選用阻斷液	☐	
抗體反應	妥善處理轉漬膜	確保轉漬膜沒有處於乾燥狀態，且沒有經過裁剪	☐	
	適當的抗體濃度	一級抗體稀釋比例 ，二級抗體稀釋比例	☐	
	使用新鮮配製的抗體	抗體為新鮮配製，沒有重複使用	☐	
	反應後充分沖洗轉漬膜	抗體反應後已充分沖洗過轉漬膜，減少非專一性結合反應	☐	
訊號偵測	遵循化學冷光訊號檢測注意事項	避光配製 ECL 冷光試劑，且現配現用	☐	
		ECL 冷光試劑用量充足，可均勻覆蓋整張轉漬膜	☐	
	遵循螢光訊號檢測注意事項	確保 Bromophenol blue 遠離目標條帶	☐	
		使用鉛筆而非原子筆標記轉漬膜	☐	