

製品コード T7132A

研究用

Takara

**Western BLoT Blocking Buffer
(Protein Free)**

説明書

v201704

ウェスタンブロッティングで明瞭な結果を得るためには、非特異的シグナルを抑制する最適なブロッキング法を選択することが重要です。本製品は全成分が化学成分からなるプロテインフリーのブロッキング剤で、一般的に使用されているスキムミルクより感度が上昇するように設計されています。通常のサンプルに加え、リン酸化タンパク質の検出にも優れた効果を示します。

また、Western BLoT Immuno Booster PF*（製品コード T7115A）との併用で 100% プロテインフリー環境でのアッセイが可能になります。

*：Western BLoT Immuno Booster PF はプロテインフリー条件下で HRP 化学発光基質である Western BLoT HRP Substrate シリーズと組み合わせることにより、ウェスタンブロッティングの検出感度が向上し、より高く明瞭なシグナルを得ることができるエンハンサー試薬です。

I. 内容 Western BLoT Blocking Buffer (Protein Free) 500 ml

II. 保存 4°C（防腐剤含有）

III. 本製品以外に必要なもの

ウェスタンブロッティングに必要な全ての試薬、機器等をあらかじめ準備してください。

IV. 操作上の注意

本製品を使用する場合の注意事項です。使用前に必ずお読みください。

1. 本製品は予め最適濃度に調製されているため、希釈等を行うと本来の性能が得られない場合があるのでご注意ください。
2. 稀に成分が析出物として生じることがあります。室温に戻して転倒混和で溶解してからご使用ください。

V. 使用方法

本製品は最適濃度に調製されているので、そのままご使用ください。

ウェスタンブロッティング

- (1) SDS-PAGE でタンパク質を分離する。
- (2) PVDF メンブレンへタンパク質を転写する。
- (3) 適当な大きさのトレイに Western BLoT Blocking Buffer (Protein Free) を入れて、タンパク質を転写したメンブレンを浸す。シェーカーなどで緩やかに振盪させながら、室温 (20 ~ 30°C) で 1 時間ブロッキングする。本製品の使用量の目安は、0.2 ml/cm² メンブレンである。
- (4) 適当な一次抗体と二次抗体を使用して、ウェスタンブロット検出を行う。抗体の希釈に本製品を使用することも可能である。

VI. 使用例

本製品の使用例を以下に示します。

【使用例 (1)】

- サンプル： HeLa 細胞ライセート (5、2.5、1.25、0.625、0.312 μg / レーン)
ブロッキング剤： Western BLoT Blocking Buffer (Protein Free)
一次抗体： Monoclonal Anti- β -actin, clone AC-15(2 mg/ml) [isotype IgG₁]
(終濃度 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$)
二次抗体： Goat Anti-Mouse IgG (H+L) Peroxidase conjugated (終濃度 0.16 $\mu\text{g}/\text{ml}$)
抗体希釈： 抗体濃度の調整に以下の試薬を使用した。

1	Western BLoT Blocking Buffer (Protein Free)
2	Western BLoT Immuno Booster PF (製品コード T7115A)

基質： Western BLoT Chemiluminescence HRP Substrate (製品コード T7101A)
洗浄液： TBS-T [組成： 10 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 0.1% Tween 20 (pH7.6)]

1. Western BLoT Blocking Buffer (Protein Free)

5 2.5 1.25 0.625 0.312

2. Western BLoT Immuno Booster PF

5 2.5 1.25 0.625 0.312 (μg)



露光 5 分

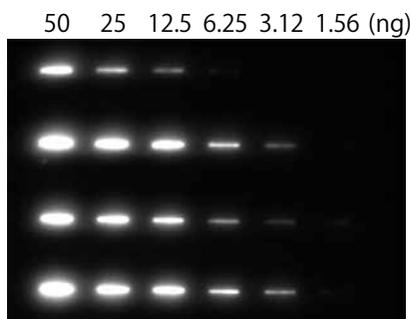
【使用例 (2)】

- サンプル： Human Transferrin (50、25、12.5、6.25、3.12、1.56 ng/ レーン)
ブロッキング剤： Western BLoT Blocking Buffer (Protein Free)
一次抗体： Goat anti-Human Transferrin affinity purified (終濃度 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$)
二次抗体： Affinity Purified Antibody Peroxidase Label Rabbit anti-Goat IgG (H+L)
(終濃度 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$)
抗体希釈： 抗体濃度の調整に以下の試薬を使用した。

1	TBS-T
2	Western BLoT Immuno Booster (製品コード T7111A)
3	A 社 反応促進試薬
4	Western BLoT Immuno Booster PF (製品コード T7115A)

基質： Western BLoT Chemiluminescence HRP Substrate (製品コード T7101A)
洗浄液： TBS-T [組成： 10 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 0.1% Tween 20 (pH7.6)]

- 50 25 12.5 6.25 3.12 1.56 (ng)
1. TBS-T
2. Western BLoT Immuno Booster
3. A 社 反応促進試薬
4. Western BLoT Immuno Booster PF



露光 5 分

VII. 関連製品

<化学発光検出用 HRP 基質>

- Western BLoT Chemiluminescence HRP Substrate (製品コード T7101A/B)
- Western BLoT Quant HRP Substrate (製品コード T7102A/B)
- Western BLoT Hyper HRP Substrate (製品コード T7103A/B)
- Western BLoT Ultra Sensitive HRP Substrate (製品コード T7104A/B)

<抗原抗体反応促進剤>

- Western BLoT Immuno Booster (製品コード T7111A)
- Western BLoT Immuno Booster PF (製品コード T7115A)

<迅速・高感度検出試薬>

- Western BLoT Rapid Detect v2.0 (製品コード T7122A)

<ブロッキングバッファー>

- Western BLoT Blocking Buffer (Fish Gelatin) (製品コード T7131A)

<ストリッピングバッファー>

- Western BLoT Stripping Buffer (製品コード T7135A)

<バッファータブレット、パウダー>

- Tris-Glycine-SDS Buffer (TG-SDS) Powder, pH8.3 (製品コード T9101)
- Tris-Glycine Buffer (TG) Powder, pH8.3 (製品コード T9102)
- Tris Buffered Saline (TBS) Tablets, pH7.6 (製品コード T9141)
- Tris Buffered Saline with Tween 20 (TBS-T) Tablets, pH7.6 (製品コード T9142)
- Phosphate Buffered Saline (PBS) Tablets, pH7.4 (製品コード T9181)
- Phosphate Buffered Saline (PBS) Tablets without Potassium, pH7.4 (製品コード T9182)
- Phosphate Buffered Saline with Tween 20 (PBS-T) Tablets, pH7.4 (製品コード T9183)

<タンパク質電気泳動用ラダーマーカー>

- CLEARLY Protein Ladder (Unstained) (製品コード 3453A/B)
- CLEARLY Stained Protein Ladder (製品コード 3454A/B)

VIII. 注意

- ・本製品は研究用試薬です。ヒト、動物への医療、臨床診断には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
- ・タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
- ・ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。
- ・本説明書に記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。

製品についての技術的なお問い合わせ先

テクニカルサポートライン

Tel 077-565-6999 Fax 077-565-6995

ウェブサイト <http://www.takara-bio.co.jp>

タカラバイオ株式会社