

蛋白质电泳和 Western Blot 缓冲液配方

储存液

- 1 M Tris-HCl, pH 7.6
- 0.5 M Tris-HCl, pH 6.8
- 10% SDS
- 1.0% 溴酚蓝
- 10X Tris 缓冲液 (TBS)
- 10X 磷酸盐缓冲液 (PBS)

样品制备缓冲液

- RIPA 裂解液
- 2X SDS 上样缓冲液 (Laemmli 缓冲液)
- 4X LDS 上样缓冲液

电泳缓冲液

- 10X Tris- 甘氨酸 SDS 电泳缓冲液
- 10X Tris- 甘氨酸非变性电泳缓冲液
- 20X MOPS SDS 电泳缓冲液
- 20X MES SDS 电泳缓冲液
- 10X tricine SDS 电泳缓冲液

转印缓冲液

- 25X Tris- 甘氨酸转印缓冲液
- 20X Bis-Tris 转印缓冲液

漂洗缓冲液

- 含 Tween™ 20 的 Tris 缓冲液 (TBST)
- 含 Tween 20 的磷酸盐缓冲液 (PBST)

封闭液和抗体剥离液

- 5% 脱脂牛奶
- 3% BSA
- 抗体剥离液

手灌胶配方

- Invitrogen™ SureCast™ 试剂
- 自选配胶试剂

储存液

1 M Tris-HCl, pH 7.6

Tris base	12.11 g
去离子水	80 mL
用 HCl 调节 pH 值至 7.6	
去离子水	至 100 mL

0.5 M Tris-HCl, pH 6.8

Tris base	6.06 g
去离子水	60 mL
用 HCl 调节 pH 值至 6.8	
去离子水	至 100 mL

10% SDS

SDS	1.00 g
去离子水	至 10 mL

1.0% 溴酚蓝

溴酚蓝	100 mg
去离子水	至 10 mL

10X Tris 缓冲液 (TBS)

Tris base	24 g
NaCl	88 g
去离子水	900 mL
用 HCl 调节 pH 值至 7.6	
去离子水	至 1,000 mL

10X 磷酸盐缓冲液 (PBS)

NaCl	80 g
KCl	2 g
Na ₂ HPO ₄	14.4 g
NaH ₂ PO ₄	2.4 g
去离子水	900 mL
用 NaOH 调节 pH 值至 7.0	
去离子水	至 1,000 mL

样品制备缓冲液

RIPA 裂解液: 25 mM Tris-HCl、150 mM NaCl、1% NP-40、1% 脱氧胆酸钠、0.1% SDS (100 mL), pH 7.6

NaCl	0.88 g
NP-40	1 g
脱氧胆酸钠	1 g
10% SDS	1 mL
1 M Tris-HCl, pH 7.6	2.5 mL
去离子水	至 100 mL
Thermo Scientific™ Pierce™ 蛋白酶抑制剂片剂 (货号 A32965)	2 片



即用型推荐产品:

Thermo Scientific™ RIPA 裂解液 (货号 89900)

SDS 上样缓冲液 (Laemmli 缓冲液): 63 mM Tris-HCl、10% 甘油、2% SDS、0.0025% 溴酚蓝, pH 6.8

2X 储存液的配方:

0.5 M Tris-HCl, pH 6.8	2.5 mL
甘油	2 mL
10% (w/v) SDS	4 mL
0.1% (w/v) 溴酚蓝	0.5 mL
去离子水	至 10 mL

该缓冲液可在 4°C 下稳定保存 6 个月。



即用型推荐产品:

Invitrogen™ Novex™ Tris- 甘氨酸 SDS 上样缓冲液(2X) (货号 LC2676)



即用型推荐产品:

Thermo Scientific™ Pierce™ 20X TBS 缓冲液 (货号 28358)

Thermo Scientific™ Pierce™ 20X PBS 缓冲液 (货号 28348)

样品制备缓冲液

LDS 上样缓冲液: 106 mM Tris-HCl、141 mM Tris base、2% LDS、10% 甘油、0.51 mM EDTA、0.22 mM SERVA Blue G250、0.175 mM 酚红, pH 8.5

4X 储存液的配方:

Tris HCl	0.666 g
Tris base	0.682 g
LDS	0.800 g
EDTA	0.006 g
甘油	4 g
SERVA Blue G250 (1% 溶液)	0.75 mL
酚红 (1% 溶液)	0.25 mL
去离子水	至 10 mL

该缓冲液可在 4°C 下稳定保存 6 个月。切勿使用酸或碱调整 pH 值。



即用型推荐产品:

Invitrogen™ NuPAGE™ LDS 上样缓冲液 (4X) (货号 NP0007)

电泳缓冲液

Tris- 甘氨酸 SDS 电泳缓冲液: 25 mM Tris base、192 mM 甘氨酸、0.1% SDS, pH 8.3

10X 储存液的配方:

Tris base	29 g
甘氨酸	144 g
SDS	10 g
去离子水	至 1,000 mL



即用型推荐产品:

Invitrogen™ Novex™ Tris- 甘氨酸 SDS 电泳缓冲液 (10X) (货号 LC2675)

Tris- 甘氨酸非变性电泳缓冲液: 25 mM Tris base、192 mM 甘氨酸, pH 8.3

10X 储存液的配方:

Tris base	29 g
甘氨酸	144 g
去离子水	至 1,000 mL



即用型推荐产品:

Invitrogen™ Novex™ Tris- 甘氨酸非变性电泳缓冲液 (10X) (货号 LC2672)

MOPS SDS 电泳缓冲液: 50 mM MOPS、50 mM Tris base、0.1% SDS、1 mM EDTA, pH 7.7

20X 储存液的配方:

MOPS	104.6 g
Tris base	60.6 g
SDS	10 g
EDTA	3.0 g
去离子水	至 500 mL



即用型推荐产品:

Invitrogen™ MOPS SDS 电泳缓冲液 (20X) (货号 NP0001)

电泳缓冲液

MES SDS 电泳缓冲液: 50 mM MES、50 mM Tris base、0.1% SDS、1 mM EDTA, pH 7.3

20X 储存液的配方:

MES	97.6 g
Tris base	60.6 g
SDS	10 g
EDTA	3.0 g
去离子水	至 500 mL

切勿使用酸或碱调节 pH 值。

 即用型推荐产品:

Invitrogen™ MES SDS 电泳缓冲液 (20X) (货号 NP0002)

Tricine SDS 电泳缓冲液: 100 mM Tris base、100 mM tricine、0.1% SDS, pH 8.3

10X 储存液的配方:

Tris base	121 g
Tricine	179 g
SDS	10 g
去离子水	至 1,000 mL

该缓冲液可在室温下稳定保存 6 个月。切勿使用酸或碱调节 pH 值。

 即用型推荐产品:

Invitrogen™ Novex™ Tricine SDS 电泳缓冲液(10X) (货号 LC1675)

转印缓冲液

Tris- 甘氨酸转印缓冲液: 12 mM Tris base、96 mM 甘氨酸, pH 8.3

25X 储存液的配方:

Tris base	18.2 g
甘氨酸	90 g
去离子水	至 500 mL

 即用型推荐产品:

Invitrogen™ Novex™ Tris- 甘氨酸转印缓冲液(25X) (货号 LC3675)

Bis-Tris 转印缓冲液: 25 mM bicine、25 mM Bis-Tris (游离碱)、1 mM EDTA, pH 7.2

20X 储存液的配方:

Bicine	10.2 g
Bis-Tris (游离碱)	13.1 g
EDTA	0.75 g
去离子水	至 125 mL

该缓冲液可在 4°C 下稳定保存 6 个月。切勿使用酸或碱调整 pH 值。

 即用型推荐产品:

Invitrogen™ NuPAGE™ 转印缓冲液 (20X) (货号 NP0006)

漂洗缓冲液

含 Tween 20 去垢剂的 Tris 缓冲液 (TBST)

10X TBS	100 mL
Tween 20 去垢剂	1 mL
去离子水	至 1,000 mL



即用型推荐产品:

Thermo Scientific™ Pierce™ 20X TBS Tween™ 20 缓冲液 (货号 28360)

封闭液和抗体剥离液

5% 脱脂牛奶

脱脂奶粉	2.5 g
TBST 或 PBST	至 50 mL
过滤以去除未溶颗粒物	



即用型推荐产品:

Thermo Scientific™ Pierce™ 澄清牛奶封闭液 10X (货号 37587)

含 Tween 20 去垢剂的磷酸盐缓冲液 (PBST)

10X PBS	100 mL
Tween 20 去垢剂	1 mL
去离子水	至 1,000 mL



即用型推荐产品:

Thermo Scientific™ Pierce™ 20X PBS Tween™ 20 缓冲液 (货号 28352)

3% BSA

BSA	1.5 g
TBST 或 PBST	至 50 mL
过滤以去除未溶颗粒物	



即用型推荐产品:

Thermo Scientific™ Pierce™ Blocker BSA (10X), TBS 体系 (货号 37520)

Thermo Scientific™ Pierce™ Blocker BSA (10X), PBS 体系 (货号 37525)

抗体剥离液

0.5 M Tris-HCl, pH 6.8	12.5 mL
10% SDS	20 mL
2- 巯基乙醇	0.8 mL
去离子水	67.5 mL



即用型推荐产品:

Thermo Scientific™ Restore™ 抗体剥离液 (货号 21059)

Thermo Scientific™ Restore™ 荧光抗体剥离液 (货号 62300)

手灌胶配方

使用 SureCast 试剂的手灌胶配方

下表每列所示体积可制备一块凝胶。根据需要制备的凝胶数量，成比例放大体积。

聚丙烯酰胺浓度

分离胶溶液	4%	6%	8%	10%	12%	14%	16%	18%	20%
SureCast 40% 丙烯酰胺 (货号 HC2040)	0.8 mL	1.2 mL	1.6 mL	2.0 mL	2.4 mL	2.8 mL	3.2 mL	3.6 mL	4.0 mL
SureCast 分离胶缓冲液 (货号 HC2215)	2.0 mL								
蒸馏水	5.1 mL	4.7 mL	4.3 mL	3.9 mL	3.5 mL	3.1 mL	2.7 mL	2.3 mL	1.9 mL
10% SureCast APS (货号 HC2005)	80 μ L								
SureCast TEMED* (货号 HC2006)	8 μ L								

* 最后加入，并在倒胶之前充分混匀。

根据下表制备浓缩胶。表中所列的体积可制备一块凝胶。根据需要制备的凝胶数量，成比例放大体积。备注：溶液不需要脱气。

浓缩胶	4%
SureCast 丙烯酰胺 (40%) (货号 HC2040)	0.30 mL
SureCast 浓缩胶缓冲液 (货号 HC2112)	0.75 mL
蒸馏水	1.92 mL
10% SureCast APS (货号 HC2005)	30 μ L
SureCast TEMED* (货号 HC2006)	3 μ L

* 最后加入，并在倒胶之前充分混匀。

使用自选配胶试剂的配方

储存液

制备以下储存液。所有溶液均可室温储存。

50% 丙烯酰胺 /Bis (29:1) <ul style="list-style-type: none">48.3 g 丙烯酰胺1.7 g Bis 加水定容至 100 mL 在避光玻璃瓶中可稳定保存长达两个月	分离胶缓冲液 (1 M Tris-HCl, pH 8.8) <ul style="list-style-type: none">将 30.3 g Tris 加入 150 mL 水中用 HCl 调节 pH 值至 8.8 加水定容至 250 mL	浓缩胶缓冲液 (0.375M Tris HCl, pH 6.8) <ul style="list-style-type: none">将 11.4 g Tris 加入 150 mL 水中用 HCl 调节 pH 值至 6.8 加水定容至 250 mL
催化剂: 过硫酸铵 (APS) (使用当天新鲜配制) <ul style="list-style-type: none">100 mg 过硫酸铵 加水定容至 2 mL	10% SDS <ul style="list-style-type: none">10.0 g SDS 加水定容至 100 mL	50% 蔗糖 <ul style="list-style-type: none">50.0 g 蔗糖 加水定容至 100 mL

分离胶

下表每列所示体积可制备约 25 mL 分离胶，足以用于灌制四块 1.0 mm 厚的小型凝胶。根据需要制备的凝胶数量，按比例放大体积。

溶液	6% 凝胶	8% 凝胶	10% 凝胶	12% 凝胶	14% 凝胶	16% 凝胶	18% 凝胶	20% 凝胶
50% 丙烯酰胺 /Bis	3.0 mL	4.0 mL	5.0 mL	6.0 mL	7.0 mL	8.0 mL	9.0 mL	10.0 mL
分离胶缓冲液	9.4 mL							
10% SDS	250 μ L							
50% 蔗糖 *	4.0 mL							
水	7.8 mL	6.8 mL	5.8 mL	4.8 mL	3.7 mL	2.7 mL	1.7 mL	750 μ L
TEMED**	6.25 μ L							
APS**	625 μ L							

* 可选，但建议使用，因为它有助于在分离胶和覆盖层之间形成理想的界面。如果忽略不用，则增加水量以补齐蔗糖溶液体积（基于上表数据增加 4.0 mL 水量）。

** 最后加入，并在倒胶之前充分混匀。

浓缩胶

以下配方可制备 12.5 mL 的 4% 浓缩胶。

溶液	4%
50% 丙烯酰胺 /Bis	1.0 mL
浓缩胶缓冲液	4.2 mL
10% SDS	125 μ L
水	6.3 mL
TEMED**	5.0 μ L
APS**	1.0 mL

** 最后加入，并在倒胶之前充分混匀。

一键获取实用技术资源和产品方案，助力高品质蛋白质免疫印迹结果

Invitrogen™ BlotBuilder™ 实验方案选择工具

让我们来帮助您针对具体的蛋白特点和实验需求，挑选最合适的研究工具。您仅需回答关于目标蛋白和实验体系的几个问题，便可获取一整套推荐产品方案，以及相应的蛋白质免疫印迹操作指南。



即刻定制方案，请浏览
thermofisher.com/blotbuilder

蛋白电泳和免疫印迹学习中心

仅通过一次实验就获得文献级的结果绝非易事。这个学习中心的目的是与科研人员分享我们的资源，从网络讲座到实用建议与技巧，帮助您深入了解蛋白电泳和免疫印迹实验方法。



即刻获取资源，请浏览
thermofisher.com/westerneducation

赛默飞世尔科技

上海

上海市浦东新区新金桥路27号3,6,7号楼
邮编 201206
电话 021-68654588*2570

生命科学产品和服务业务

上海市长宁区仙霞路99号21-22楼
邮编 200051
电话 021-61453628 / 021-61453637

成都

成都市临江西路1号锦江国际大厦1406室
邮编 610041
电话 028-65545388*5300

南京

南京市中央路201号南京国际广场南楼1103室
邮编 210000
电话 021-68654588*2901

北京

北京市东城区北三环东路36号环球贸易中心C座7层/8层
邮编 100000
电话 010-87946888

沈阳

沈阳市沈河区惠工街10号卓越大厦3109室
邮编 110013
电话 024-31096388*3901

武汉

武汉市东湖高新技术开发区高新大道生物园路
生物医药园C8栋5楼
邮编 430075
电话 027-59744988*5401

广州

广州国际生物岛寰宇三路36、38号合景星辉广场北塔204-206单元
邮编 510000
电话 020-82401600

西安

西安市高新区科技路38号林凯国际大厦
1006-08单元
邮编 710075
电话 029-84500588*3801

昆明

云南省昆明市五华区三市街6号柏联广场写字楼908单元
邮编 650021
电话 0871-63118338*7001

欲了解更多信息，请扫描二维码关注我们的微信公众账号

赛默飞世尔科技在全国有共21个办事处。本资料中的信息，说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。



赛默飞
官方微信



赛默飞
生命科学小助手

免费服务电话：800 820 8982/400 820 8982
信息咨询邮箱：cnbidmarketing@thermofisher.com

Thermo Fisher
SCIENTIFIC