

Вестерн-блоттинг

Высококачественная продукция для различных этапов вестерн-блоттинга



ADVANCING LIFE SCIENCE TOGETHER™ Research, Development, Production.

Позвольте опыту Millipore в вестерн-блоттинге

поставить Ваше исследование на поток.

Одним из способов повысить качество и воспроизводимость результатов при выполнении иммунодетекции является использование взаимодополняющих компонентов на каждом этапе вестерн-блоттинга. Наша линия продукции для иммунодетекции обеспечит Вас всем необходимым для постановки исследований на поток и поможет получить результаты высочайшего качества.





Immobilon ®

Мембраны для переноса

Millipore предлагает 3 типа PVDF мембран для переноса белков, каждая из которых предназначена для определенных целей. Все они обладают механической прочностью и совместимы с широким рядом реагентов для детекции и стрипирования.

Мы предлагаем также так называемые блоттинг-сандвичи, состоящие из нарезанных листов мембраны и фильтровальной бумаги, что обеспечивает большее удобство в работе.

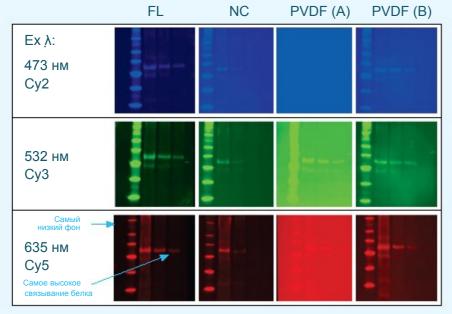
Преимущества PVDF мембран:

- Высокое связывание белков
- Механическая прочность
- Широкая химическая совместимость



Мембрана Immobilon-FL имеет самую низкую аутофлуоресценцию

Мембранная флуоресценция





FL = мембрана Immobilon-FL NC = нитроцеллюлоза PVDF (A) PVDF (B)

Мембранная аутофлуоресценция.

Был выполнен блоттинг лизата ткани мозга на различных мембранах и проведена детекция белка GSK3b (Glycogen Synthetase Kinase 3 beta) с использованием антител Millipore (кроличьи поликлональные, кат. № AB8687) и вторичных антител, конъюгированных с Cy2, Cy3 и Cy5. Детекцию осуществляли на лазерном сканере Fuji, FLA5100. Длина волны указана справа. Используемые фильтры: 510 нм для Cy2, 573 для Cy3 и 700 нм для Cy5.

Сравнительная характеристика мембран Immobilon

	Immobilon-P	Immobilon-PSQ	lmmobilon-FL
Описание	Предназначена для переноса белков из различных типов гелей	Идеально связывает белки с молекулярной массой <20 кДа	Для флуоресцентной иммунодетекции
Материал	PVDF	PVDF	PVDF
Размер пор	0.45 μm	0.2 μm	0.45 μm
Фобность	Гидрофобная	Гидрофобная	Гидрофобная
Применение	Вестерн-блоттинг Анализ связывания Анализ аминокислот Секвенирование белков Дот/слот блоттинг Визуализация гликопротеинов Анализ липополисахаридов Масс спектрометрия	Блоттинг низкомолекулярных белков Анализ аминокислот Масс спектрометрия Секвенирование белков	Вестерн-блоттинг Дот/слот блоттинг Флуоресцентная иммунодетекция
Методы детекции	Хромогенная Хемилюминесцентная Радиоактивная	Хромогенная Хемилюминесцентная Радиоактивная	Флуоресцентная Хромогенная Хемифлуоресцентная Хемилюминесцентная
Связывание белка	Инсулин: 160 мкг/см ² BSA: 215 мкг/см ² IgG козла: 294 мкг/см ²	Инсулин: 262 мкг/см ² BSA: 340 мкг/см ² IgG козла: 448 мкг/см ²	Инсулин: 155 мкг/см ² BSA: 205 мкг/см ² IgG козла: 300 мкг/см ²

Информация для заказа

Наименование	Размер	Количество	Кат. №
Immobilon-P Blotting Sandwiches:	7 x 8.4 cm Sheet	20/pk	IPSN07852
PVDF 0.45 µm	8.5 x 13.5 cm Sheet	20/pk	IPSN08132
Immobilon-P: PVDF 0.45 μm	*10 x 10 cm Sheet	10/pk	IPVH10100
	26.5 cm x 3.75 m	Roll	IPVH00010
Immobilon-PSQ: PVDF 0.22 μm	*10 x 10 cm Sheet	10/pk	ISEQ10100
	26.5 cm x 3.75 m	Roll	ISEQ00010
Immobilon-FL: PVDF 0.45 μm	*10 x 10 cm Sheet	10/pk	IPFL10100
	26.5 cm x 3.75 m	Roll	IPFL00010

^{*}Имеются также другие размеры. Более подробную информацию можно найти на нашем сайте www.millipore.com

Больше информации на www.millipore.com/western

SNAP i.d.™

Система детекции

Система детекции SNAP i.d. позволяет получить высококачественные результаты иммунодетекции за **30 минут!**

В отличие от традиционного вестерн-блоттинга, при котором основным способом транспорта реагентов является диффузия, в системе SNAP i.d. реагенты пропускаются через мембрану под действием вакуума.

Такой подход позволяет оптимизировать условия эксперимента за рекордно короткие сроки. Система SNAP i.d. снижает риск избыточной блокировки благодаря использованию меньших концентраций блокирующих агентов. Помимо этого, более эффективная отмывка позволяет удалить контаминанты с поверхности мембраны.

Система SNAP i.d. дает ничтожно низкий уровень фона, высокую воспроизводимость и чувствительность, превосходя по этим показателям традиционные технологии иммунодетекции.



Больше информации на www.millipore.com/snapid

Активный транспорт реагентов позволяет получить превосходные блоты за 30 минут.



В отличие от традиционных технологий вестерн-блоттинга, при которых реагенты проходят скозь мембрану методом диффузии, в системе SNAP i.d. они быстро проникают сквозь ее толщу под действием вакуума.





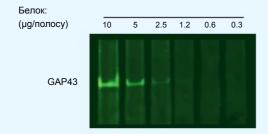
Преимущества системы SNAP i.d.

- Динамичность вакуум активно пропускает реагенты сквозь мембрану
- Качество выше, чем при стандартном подходе
- Скорость снижает время иммунодетекции до 30 минут
- Простота объединяет этапы блокировки, отмывки и инкубации с антителами
- Совместимость работает с рядом протоколов и размеров гелей
- Эффективность оптимизация концентраций новых антител за 30 минут

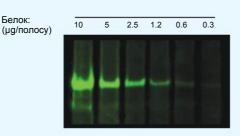
Мембраны Immobilon-FL и система SNAP i.d.

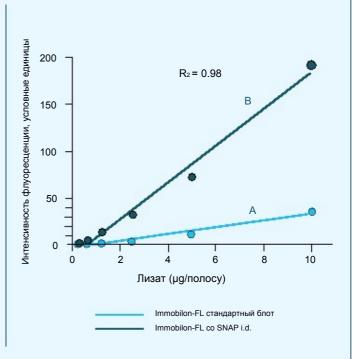
Использование системы SNAP i.d. с мембранами Immobilon-FL дает наилучшую флуоресценцию

A. Immobilon-FL Стандартный блот



B. Immobilon-FL co SNAP i.d.

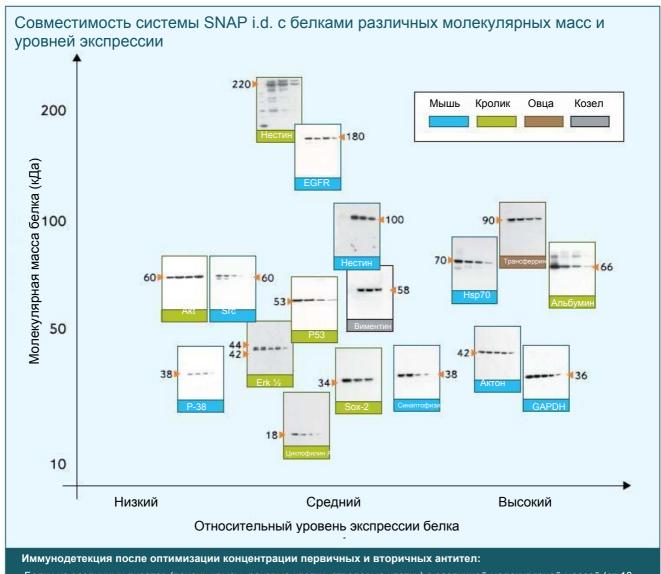




Флуоресцентная иммунодетекция (метка Су3) GAP43 в лизате мозга человека.

Блоты 2-кратной серии разведений лизата мозга человека были приготовлены, как описано в «Материалах и методах». Блоты визуализировали одновременно с помощью системы детекции Fujifilm FLA-5100.

Панель **A** – стандартный блот, панель **B** – блот, полученный с помощью SNAP i.d. График отражает количественные анализ иммунореактивных полос блотов (A) и (B), соответственно.



Белки из различных лизатов (печень крысы, раковые клетки, стволовые клетки) с различной молекулярной массой (от 18 до 220 кДа) в различных концентрациях (в зависимости от типа образца и количества, загруженного в гель) были детектированы с помощью системы SNAP i.d.

Информация для заказа

Наименование		Количество	Кат. №
Система детекции SNAP i.d.			WBAVDBASE
Расходные материалы	Одноместный держатель	30/pk	WBAVDBH01
и аксессуары	Двухместный держатель	30/pk	WBAVDBH02
	Трехместный держатель	20/pk	WBAVDBH03
	Коллектор антител	20/pk	WBAVDABTR
	Ролик для блотов		WBAVDR0LL
	Вакуумный насос, 115 V/60 Hz		WP6111560
	Вакуумный насос, 220 V/50 Hz		WP6122050
	Колба Бунзена, 1 л		XX1004705
	Силиконовая пробка, 5/pk		XX1004708
	Пинцет		XX6200006

Теперь у нас есть антитела!

С тех пор как компании Upstate[®] и Chemicon[®] вошли в состав Millipore, мы стали продолжателями традиций разработки инновационных антител для различных исследовательских нужд.

АВТОРИТЕТ

Долгие годы Вы доверяли нам, приобретая системы очистки воды и оборудование для пробоподготовки. Теперь Вы можете найти у нас антитела такого же высокого качества.

ФОКУСИРОВКА

Мы предоставляем широкий выбор высококачественных антител, сфокусированных на специфических областях исследований, будь то нейробиология, сигнальные каскады, структура клетки и адгезия, либо апоптоз. Вам будет что выбрать из нашего портфолио моноклональных и поликлональных антител!

ВАЛИДАЦИЯ

Вы можете быть уверены в получаемых результатах. Все антитела Millipore валидированы для использования в заявленных методиках и снабжены соответствующими протоколами. Имеются антитела, валидированные для применения в вестерн-блоттинге, а также других методах: иммунопреципитация, ИГХ, ELISA, ChIP и др.

РАЗМЕЩЕНИЕ ЗАКАЗА

Московское представительство компании Millipore: 117191 г. Москва, Ленинский пр. 113/1, оф. E-718

Тел./факс:

(495) 931-91-91

Больше информации: www.millipore.com/pathways www.millipore.com/lss







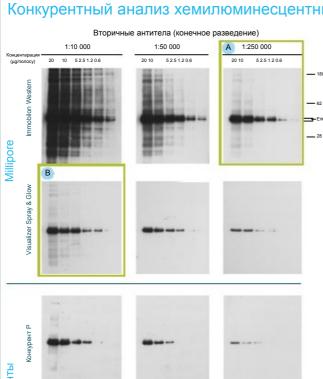
Immobilon

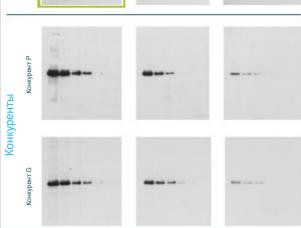
Реагенты для детекции

Субстрат Immobilon Western имеет высокую чувствительность и низкий уровень фона в пределах широкого динамического диапазона. Цена реагента ниже по сравнению с хемилюминесценетными субстратами других производителей.

- Высокий уровень сигнала и низкий фон позволяет выполнять детекцию при низкой концентрации белка без использования усилителей и специальных буферов
- Низкий расход антител как минимум в 2 5 раз меньше, чем при использовании других хемилюминесцентных субстратов
- Совместимость как с PVDF, так и с целлюлозными мембранами, а также со всеми традиционно используемыми буферами и блокирующими агентами

Конкурентный анализ хемилюминесцентных реагентов





Хемилюминесцентная детекция МАР-киназы Erk 1/2.

Серийные разведения лизата образца (EGFстимулированные клетки А431, кат. № 12-110, концентрация белка на полосу указана вверху) подверглись электрофоретической сепарации и блоттингу на PVDF мембрану (Immobilon P, кат. № IPVH00010). Блоты блокировали 3% обезжиренным молоком, кат. № 20-200, в TBS с 0,1% Tween- $20^{\$}$ (TBS-T). MAP-киназу Erk $\frac{1}{2}$ идентифицировали с помощью кроличьих антител к Erk ½., кат. № 06-182, конечное разведение 1 : 4000, и HRP-конъюгированных антител к IgG кролика, кат. № AP132P. Отмывку производили в TBS-T, иммунодетекцию блотов осуществляли в одинаковых условиях. Маркеры молекулярной массы (кДа) указаны справа. Следует помнить, что pearent Immobilon Western HRP вызывает очень сильный хемилюминесцентный сигнал, поэтому рекомендуется использовать в 10 раз меньшую концентрацию вторичных антител для получения наилучшего результата, чем при работе с другими хемилюминесцентными реагентами. Результаты эксперимента приведены на рисунке.

- А. Высокая чувствительность после оптимизации и в 25 раз меньше вторичных антител
- В. Хорошая чувствительность без оптимизации



Информация для заказа

Наименование	Объем, мл	Кат. №
Реагенты Immobilon	50	WBKLS0050
Хемилюминесцентный HRP субстрат	100	WBKLS0100
	500	WBKLS0500
Реагенты Immobilon	25	WBKDS0025
Хемилюминесцентный АР субстрат	100	WBKDS0100



Visualizer™

Система детекции Spray & Glow™ ECL

Система детекции Spray & Glow представляет собой удобный в использовании реагент для хемилюминесцентной детекции (ECL), выпускаемый в виде спрея. Для детекции интересующего Вас белка стандартными методами, просто сбрызните мембрану.

- Удобный формат
- Не требует смешивания реагентов

Информация для заказа

Наименование	Кат. №	
Система детекции Spray & Glow	17-373	
100 мл (на 50 блотов)		

Amicon®Ultra

Центрифужные фильтры

Используя фильтры Amicon Ultra, Вы можете снизить время центрифугирования и повысить количество белка на выходе. Эти ультрафильтрационные устройства комбинируют в себе мембрану Ultracel®, имеющую низкое связывание белков, с инновационной вертикальной формой ее расположения. Все это вместе делает Amicon Ultra идеальным средством для концентрирования биологических растворов, содержащих антитела, антигены, или очищенные хроматографией белки.

Высокая скорость

- Образцы объемом of 4 -15 мл можно сконцентрировать всего лишь за 15 минут
- Выход >90%
- Ультрафильтрационная мебрана Ultracel (регенерированная целлюлоза) с низким связыванием белка

Информация для заказа

Модель	Макс. объем	NMWL	8/уп.	24/уп.	96/уп.
Amicon	4 мл	3K	UFC800308	UFC800324	UFC800396
Ultra-4		10 K	UFC801008	UFC801024	UFC801096
		30 K	UFC803008	UFC803024	UFC803096
		50 K	UFC805008	UFC805024	UFC805096
		100 K	UFC810008	UFC810024	UFC810096
Amicon	15 мл	3K	UFC900308	UFC900324	UFC900396
Ultra-15		10 K	UFC901008	UFC901024	UFC901096
		30 K	UFC903008	UFC903024	UFC903096
		50 K	UFC905008	UFC905024	UFC905096
		100 K	UFC910008	UFC910024	UFC910096

PureProteome

Магнитные шарики с протеином А и протеином G

Вам больше не нужно искать компромисс между производительностью и экономией. Магнитные шарики с протеином А и протеином G обладают высокой связывающей способностью и низким неспецифическим взаимодействием, имея при этом доступную стоимость. Магнитные шарики помогут Вам выделить белки из комплексных образцов с высоким уровнем чистоты.

- Высокая связывающая способность
- Экономичность дешевле, чем аналогичная продукция других производителей
- Быстрее и проще, чем альтернативные методы очистки



Информация для заказа

Наименование	Объем, мл	Кат. №
PureProteome Protein A	10	LSKMAGA10
Magnetic Beads	2x1	LSKMAGA02
PureProteome Protein G	10	LSKMAGG10
Magnetic Beads	2x1	LSKMAGG02
Magna GrIP™ Rack, 8 samp	20-400	



www.millipore.com

Millipore, Immobilon, Amicon, and Ultracell are registered trademarks of Millipore Corporation SNAP i.d., ReBlot, Spray and Glow, PureProteome, Visualizer Magna GrIP, the M mark and Advancing Life Science Together are trademarks of Millipore Corporation. ReNcell is a trademark of ReNeuron Group PLC. Lit. No. PB1298EN00 Rev. A Printed in U.S.A. and France BS-GEN-08-00824

© 2009 Millipore Corporation, Billerica, MA

All rights reserved