

FUJIFILM

Wako

Code No. 095-07891 (20 mL)
097-07895 (500 mL)

For Blotting ImmunoOneStep™ Western

ImmunoOneStep™ Western is a ready-to-use reagent that enables rapid and specific immunodetection by combining blocking, primary antibody incubation and secondary antibody incubation into a single step in Western blotting. For example, compared to protocols using skim milk, this product reduces the time required for blocking and antibody incubation.

[Features]

1. Ready-to-Use
2. Blocking, primary antibody incubation and secondary antibody incubation in Western blotting are completed in a single one-step reaction in as little as 1 hour
3. Protein-free formulation reduces background signals

[Storage]

Store at room temperature.

[Required materials but not supplied]

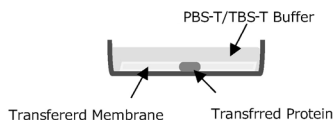
- Primary antibody
- HRP-conjugated secondary antibody
- Wash buffer : PBS-T (Phosphate Buffered Saline with Tween-20) or TBS-T (Tris Buffered Saline with Tween-20)
- Chemiluminescent or colorimetric substrate
- Orbital or rocking shaker
- Detection system (CCD imaging system or X-ray film)

[Example Protocol]

Preparation

Separate the target protein by SDS-PAGE. Then, transfer the protein onto a PVDF membrane or a nitrocellulose (NC) membrane using a blotting apparatus.

1. After transfer in Western blotting, immerse the membrane in PBS-T or TBS-T for 5 minutes.



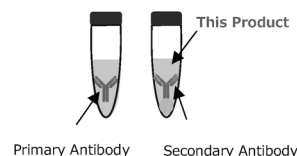
2. Dilute the primary and secondary antibody separately in different tubes using this product.*

*For example, if the primary antibody dilution is 1 : 1,000 and the secondary antibody dilution is 1 : 10,000, prepare each diluted antibody solution separately by adding 20 μL of the primary antibody or 2 μL of the secondary antibody

— 1/6 —

to 10 mL of ImmunoOneStep™ Western.

Dilution Example	Antibody	ImmunoOneStep™ Western
Primary Antibody (1 : 1,000)	20 μL	10 mL
Secondary Antibody (1 : 10,000)	2 μL	10 mL



3. Add 10 mL of the diluted primary antibody solution to a container, then add 10 mL of the diluted secondary antibody solution, and gently mix.



4. **Within 10 minutes**, immerse the membrane in the solution prepared in Step 3 and incubate with gentle shaking at room temperature for 1-2 hours.



5. Wash the membrane 3 times with PBS-T or TBS-T while shaking for 5 minutes each time.

6. Perform chemiluminescent or chromogenic detection.



[Note]

1. When diluting the secondary antibody with ImmunoOneStep™ Western, use a dilution of at least 1 : 10,000. Excess secondary antibody increases background.
2. Do not immerse the membrane in ImmunoOneStep™ Western for more than 4 hours. Prolonged incubation may increase background.
3. If high background is observed, consider optimizing the concentrations of the primary and secondary antibodies and/or the incubation time.

[Package]

Code No.	Package
095-07891	20 mL
097-07895	500 mL

— 2/6 —

コードNo. 095-07891 (20mL)
097-07895 (500mL)

ブロットイング用 イムノワンステップ™ ウェスタン

イムノワンステップ™ ウェスタンは、ウェスタンブロットイング検出におけるブロッキング、一次抗体反応、二次抗体反応をワンステップ反応で行う試薬です。迅速かつ特異的に目的タンパク質の検出が可能です。例えば、スキムミルクを用いた際と比較し、ブロッキングや抗体反応に要する時間を短縮することが可能です。

Ready-to-Use の溶液品のため、そのままご使用いただけます。

【特長】

1. Ready-to-Use の溶液
2. ウェスタンブロットイング検出におけるブロッキング、一次抗体反応、二次抗体反応を最短1時間のワンステップ反応で完了
3. プロテインフリーでバックグラウンドを低減

【保存条件】

室温

【本製品以外に必要な試薬】

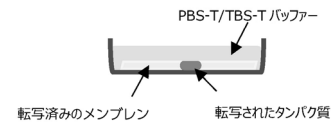
- ・一次抗体
- ・HRP 標識二次抗体
- ・洗浄液：PBS-T (Phosphate Buffered Saline with Tween-20) もしくは TBS-T (Tris Buffered Saline with Tween-20)
- ・化学発光試薬もしくは発色試薬
- ・シェーカー：オービタルシェーカーまたはロッキングシェーカー
- ・検出装置 (CCD イメージャーや X 線フィルム)

【プロトコル例】

(準備)

検出したいタンパク質を SDS-PAGE にて分離して下さい。その後、ブロットイング装置を用いて PVDF メンブレンもしくはニトロセルロース (NC) メンブレンへの転写を実施して下さい。

- (1) メンブレンを PBS-T もしくは TBS-T バッファーに浸漬して下さい。(5分)



- (2) 一次抗体と二次抗体を本製品 10mL でそれぞれ任意の濃度で希釈混合して下さい。それぞれの抗体の希釈には別のチューブを用いて下さい。*

*例えば、一次抗体の希釈倍率が 1 : 1,000、二次抗体の希釈倍率が 1 : 10,000 の場合、一次抗体溶液はイムノワンステップ™ ウェスタン 10mL に 20 μ L を、二次抗体溶液は同製品 10mL に 2 μ L をそれぞれ別のチューブに添加して、希釈混合します。

FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation

1-2, Doshomachi 3-Chome, Chuo-Ku, Osaka 540-8605, Japan
Telephone : + 81-6-6203-3741
Facsimile : + 81-6-6201-5964
<http://fwk.fujifilm.co.jp>

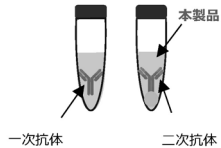
Group Companies



Distributors



希釈例	抗体	イムノワンステップ™ ウェスタン
一次抗体 (1 : 1,000)	20 μ L	10mL
二次抗体 (1 : 10,000)	2 μ L	10mL



- (3) 一次抗体溶液、二次抗体溶液の順に、同じ容器に10mLずつ添加し、軽く揺すって混合して下さい。

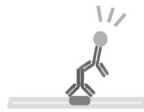


- (4) **10分以内**にメンブレンを(3)の溶液に浸し、シェーカーで振とうして下さい。(室温、1～2時間)



- (5) PBS-TもしくはTBS-Tで、メンブレンをシェーカーで振とう洗浄して下さい。(5分×3回)

- (6) 化学発光検出もしくは発色検出を実施して下さい。



【注意事項】

- 二次抗体はイムノワンステップ™ ウェスタンで希釈する際、希釈倍率を少なくとも1 : 10,000以上にして下さい。二次抗体が高濃度の場合、バックグラウンドが高くなる可能性があります。
- メンブレンはイムノワンステップ™ ウェスタンで4時間以上浸漬しないで下さい。長時間の浸漬はバックグラウンドの上昇を招く恐れがあります。
- バックグラウンドが高くなった場合は、一次抗体および二次抗体の濃度やインキュベーション時間の最適化を検討して下さい。

【容量】

コード No.	容量
095-07891	20mL
097-07895	500mL

製造発売元

富士フイルム 和光純薬株式会社

大阪府中央区道修町三丁目1番2号

Tel : 06-6203-3741