

Western blot ECL 化学发光检测试剂盒使用说明书

产品简介

Western blot ECL 化学发光检测试剂盒可用于检测辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的蛋白或核酸底物。本产品采用全新的发光增强剂, 并对各种成分进行优化, 使之具有以下几个方面的优点: 1、灵敏度高, 微弱的信号也能检测, 所以允许使用更高的抗体稀释倍数, (1: 4000-1: 10000), 极其节省抗体; 2、有效降低发光试剂造成的非特异发光和背景发光, 从而避免发光试剂造成“非特异条带”或“背景条带”; 3、不破坏膜上蛋白, 可在曝光后, 经洗涤, 对多种蛋白进行杂交; 4、发光更加稳定可靠, 从而避免“发光淬灭”以及人为干扰。

试剂盒组分

产品编号	试剂	浓度	试剂量	保存条件
B00701-100	溶液 A	2×	100ml/250 ml/500ml	4℃ 密封避光 保存有效期一 年以上。
B00701-250	溶液 B	2×	100ml/250 ml/500ml	
B00701-500				

实验步骤

1、按常规 Western blot 操作, 电泳、转膜、一抗孵育、二抗孵育后, 进行最后一次洗涤时, 根据膜的大小, 新鲜配制发光工作液。将溶液 A、溶液 B 按 1:1 比率混合, 制成发光工作液 (每 1cm² 膜需要 0.125ml 发光工作液);

2、用镊子取出膜, 并搭在滤纸上沥干洗液但勿使膜完全干燥。膜的蛋白面朝上, 将配制的发光检测液均匀覆盖到蛋白膜上, 室温孵育 1 分钟左右;

3、用镊子将膜夹起 5-10 秒, 并将膜的下缘与滤纸轻轻接触以除去膜上多余的发光液, 迅速将膜完全包裹于洁净保鲜膜内, 去除气泡和褶皱, 蛋白面朝上固定于 X 片暗盒;

4、在暗室中取一张 X 片置于包裹的膜上, 合上暗盒, 曝光 30 秒至 1 分钟。立即显影定影, 根据其曝光强度, 缩短或延长下一张 X 片的曝光时间 (对微

弱信号, 曝光时间可延长至数小时);

5、对同一张膜进行多次蛋白杂交: 用 PBST 或 TBST 洗涤掉发光液 (10min×3 次), 然后从开始一抗杂交即可。

注意事项

1. 避光条件下, 配制好的化学发光工作液在室温下可稳定 8 小时。但不宜暴露于强光下时间过久, 请避光保存。正常实验室灯光短时间照射不影响工作液的使用;

2、长时间曝光或蛋白质过量, 将加深背景并使条带强弱变化失去线性关系。曝光不足则条带模糊;

3、为了得到最佳的曝光效果, 优化一抗、二抗的稀释比例;

4、整个免疫印迹实验过程请确保印迹膜始终处于湿润状态, 避免干燥;

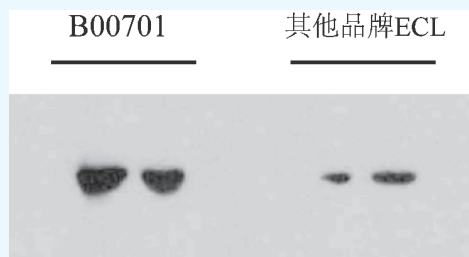
5、避免使用 NaN₃ 回收 HRP 偶联的抗体, 因为 NaN₃ 能抑制 HRP 的活性;

6、NaN₃ 能抑制 HRP 活性, 回收二抗时应避免使用 NaN₃, 如必需使用勿超过 0.01%;

7、在封闭缓冲液及所有抗体稀释液中加入高质量的吐温 -20 (终浓度为 0.05%), 以减少非特异性结合;

8、某些市售的保鲜膜会淬灭荧光, 应选择高质量保鲜膜。

案例图示



上海东寰生物科技有限公司

SHANGHAI DONGHUAN BIOTECH CO.,LTD

公司网址: www.dhbiotech.com
电话咨询: 021-39965016

QQ 咨询: 3295258599
邮箱: market@dhbiotech.com