



Western Blot 超敏 ECL 化学发光底物

产品货号: AR1111

产品名称: Western Blot 超敏 ECL 化学发光底物

产品批号: 见外包装标签

产品规格: 5ml×2

保存条件: 4°C密封避光保存, 一年有效

产品说明:

武汉博士德生物工程有限公司提供的 Western blot底物发光检测试剂是一种高灵敏度的增强型化学发光底物试剂, 采用独特的发光底物系统, 并对成份进行了优化。产品背景低, 稳定性好, 信号的灵敏度及强度高, 发光时间持久。比普通 ECL 试剂敏感度高数十倍。用于检测直接或间接标记辣根过氧化物酶 HRP 的抗体及其关联的抗原。可以灵敏地检测出目的蛋白的存在。它由辣根过氧化物酶 (HRP) 催化发生化学反应, 发出荧光, 可对 X 光胶片曝光, 也可直接进行 luminometer 检测或者荧光 CCD 扫描。

产品特点:

- 1.高信噪比, 背景低。
- 2.发光迅速。
- 3.可在日光灯下进行发光操作。
- 4.灵敏度高: 可检测 femto 级抗原。
- 5.发光持续时间长, 可进行反复曝光, 进行结果优化, 而不需重复 Western blot。
- 6.节约抗体, 包括一抗二抗。超敏化学发光检测试剂因灵敏度高, 可使用较高抗体稀释比例。一抗稀释 1:1000-1:5000 或 0.2-1.0 μ g/ml; 二抗稀释 1:20000-1:100000 或 10-50ng/ μ l。

使用方法:

- 1.执行常规 SDS-PAGE、转膜和 Western Blot 步骤。
- 2.膜的封闭: 用 TBS-T 液洗涤印迹膜 10min×2。放入 5%脱脂奶粉封闭液内, 摇床震动, 室温封闭 1 小时。
- 3.一抗孵育: 去除封闭液, 并加入稀释好的一抗, 用摇床震动, 室温孵育2h 或 4°C 孵育过夜。

注意: 最好使用推荐的一抗稀释比例, 稀释一抗使用封闭液稀释。



4.用 4-6 倍 TBS-T 洗涤印迹膜，10min×3。增加洗液量，和/或洗膜的次数可降低背景。

注意：洗涤之前，用 TBS-T 洗液将印迹膜进行简单的漂洗，将会增加洗膜的效果。

5.二抗孵育：将一抗孵育后的印迹膜放入适当稀释的 HRP 标记的二抗中孵育，摇床震动，室温孵育2 小时。

注意：最好使用推荐的 HRP 标记二抗的稀释比例，稀释二抗使用封闭液稀释。

6.重复第 4 步，以去除非特异性 HRP 标记二抗的结合。

注意：与 HRP 标记二抗孵育后，必须彻底地清洗印迹膜。

7.制备工作液：按每 1 ml 蒸馏水加 A 液和 B 液各 50μl，混匀组成工作液即可使用。用量以充分覆盖印迹膜为基准。每 10cm²膜需要大约 1ml 工作液。

8.将印迹膜有蛋白的一面朝上平整的铺在一张平板上，加上配好的发光底物工作液。

9.将印迹膜与工作液孵育 1-5min。

注意：孵育的时间可以在暗室里观察，以判断是否进行胶片曝光。

10.将一洁净的保鲜膜或透明的玻璃纸平整的铺在孵育有工作液的印迹膜上，只要保鲜膜或透明的玻璃纸比较大可以不用吸除多余的工作液，轻轻赶出其间的气泡。

11.在暗室中取一张 X 胶片小心置于膜上，曝光 5 秒至 1 分钟，立即显影定影。

注意：根据其发光的强度，缩短或延长 X 片的曝光时间（对微弱信号，曝光时间可延长至数小时），或者曝光一系列不同的时间后再显影定影挑选一张满意的。也可用合适的照相器材直接记录蛋白膜的化学发光图像。