

West Pico 超敏发光液

货号: PE0020

规格: 2*12.5ml/2*50ml

保存: 4℃密封避光保存一年以上。短期可放置室温。

产品说明:

West Pico 超敏发光液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。用于 HRP 标记抗体的 Western Blot 和 HRP 标记探针的核酸杂交。由于采用了独特的发光底物系统, West Pico 超敏发光液是目前最灵敏的商业化荧光 ECL 检测试剂:

具有极高灵敏度和高信噪比;可在日光灯下进行发光操作;发光迅速,荧光可使 X 光胶片感光达 12 小时以上,特别适用于痕量蛋白或核酸检测;可使用更高的抗体稀释倍数(1:2000~1:10000),极其节省抗体。

使用方法:

1. 执行常规 SDS-PAGE、转膜和 Western Blot 步骤。注意用 HRP 标记 IgG 或用一抗-链亲和素-生物素-HRP 夹法。
2. Western Blot 最后一次洗膜的同时新鲜配制发光工作液:分别取等体积的溶液 A 和 B,放入干净容器中混合。建议立即使用工作液,室温放置数小时后仍可使用但灵敏度略有降低。
3. 用镊子取出膜,搭在滤纸上沥干洗液但勿使膜完全干燥。将膜完全浸入发光工作液(0.125mL 发光工作液/cm² 膜)中,与发光工作液充分接触。室温孵育 3 分钟,准备立即压片曝光。孵育时间过长不会增加灵敏度,有时还会导致曝光条带异常。发光过程的本质是酶促反应,使用过少的发光工作液不利反应进行,也会导致膜上条带曝光不均和明显降低灵敏度。为达节约目的可将膜剪小但勿降低发光液用量。
4. 用镊子夹起膜,搭在滤纸上沥干发光工作液。但勿洗去发光液。
5. 打开 X 光胶片暗盒,在暗盒内表面铺一张面积大于膜的保鲜膜。将 Western Blot 膜贴在保鲜膜上,将保鲜膜折起来完全包裹 Western Blot 膜,去除气泡和皱褶,可剪去边缘部多余的保鲜膜。用滤纸吸去多余的发光工作液。用胶带将覆盖 Western Blot 膜的保鲜膜固定在暗盒内,蛋白带面向上。
6. 暗房内压 X 光胶片,分别曝光不同的时间如数秒到数分钟。显影冲洗。

注意事项:

1. 步骤 1~5 可在日光灯下操作;但发光液曝露于强光下时间过久灵敏度可能略有降低,移到暗房操作可避免之。戴手套可以避免在膜上留下手印。
2. 长时间曝光或蛋白过量,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. 发光工作液孵育约 3 分钟后膜上的条带发光。强条带发光在暗房中肉眼可见,低丰度蛋白条带发光较弱甚至肉眼不可见但可使 X 光胶片曝光。不能简单以肉眼观察判断条带发光时间。肉眼不可见的荧光实际上可持续数小时并使 X 光胶片感光,因而弱带可曝光 1-10 小时。如果曝光后条带不佳,可用洗膜缓冲液洗膜,重新孵育二抗,然后重新用 ECL 发光和曝光。

4. 由于超敏发光液极其灵敏，强烈推荐大多数进口抗体起始浓度为一抗 1:1000~1:4000，二抗 1:2000~1:5000。抗体浓度过高将造成高背景或没有条带，导致失败。
5. 某些保鲜膜包裹印迹膜时可能会淬灭荧光，应选择高质量保鲜膜。
6. 使用肉眼可见的预染色蛋白 Marker 和荧光-放射自显影曝光标签可精确确定胶片上条带的位置和大小。
7. NaN₃ 能抑制 HRP 活性，回收第二抗体应避免使用 NaN₃，如必需使用勿超过 0.01%。

相关文献:

- [1] Mingfang Jiang,Ye Wang,Hua Zhang,et al. IL-37 inhibits invasion and metastasis in non-small cell lung cancer by suppressing the IL-6/STAT3 signaling pathway. Thoracic Cancer. March 2018. (IF 2.569)

注：更多使用本产品的文献请参考索莱宝官网。