

West Femto ECL超敏发光液

产品货号: T15349

产品规格: 2×12.5ml/2×50ml

产品简介:

West Femto最高灵敏度底物是用于辣根过氧化物酶(HRP)的增强型化学发光底物, 有以下特点:

- 灵敏—使用适当的一抗和二抗时, 可在硝化纤维膜或PVDF膜上检测丰度为飞克级的蛋白条带。
- 定量—所得信号的可定量检测范围跨越两个数量级。
- 明亮信号—通过胶片或成像系统进行曝光, 易于捕获图像。
- 长信号持续时间—优化条件下, 可检测的光信号输出长达8小时。
- 稳定试剂—试剂盒组份能够在4°C条件下稳定放置一年, 在室温下可稳定放置6个月。
- 价格经济—配方经过优化, 可适用于浓度极低的抗体检测。
- 1ng至0.2μg/mL一抗 (以1μg/mL储存液稀释1:5,000至1:100,000倍)
- 2ng至10ng/mL二抗 (以1μg/mL储存液稀释1:100,000至1:500,000倍)

当West Femto底物与优化的抗体浓度和封闭缓冲液配合使用时, 可检测到常规ECL底物无法检测的低丰度靶标蛋白。

重要提示:

1. 为获得最佳效果, 必须优化该系统的全部组分, 包括样品量、一抗和二抗浓度以及膜和封闭试剂的类型。
2. 使用该产品比使用沉淀比色HRP底物检测所需的抗体浓度低。为优化抗体浓度, 请进行一次系统的点印迹分析。
3. 没有一种封闭试剂对所有系统而言都是最佳的, 所以为每一个免疫印迹检测系统找到最合适的封闭缓冲液非常必需。封闭试剂有可能与抗体产生交叉反应, 导致出现非特异性信号。封闭缓冲液同时也会影响系统的灵敏性。当从一种底物转换为另一种底物时, 有时会出现信号衰减或背景增加的现象, 原因可能是封闭缓冲液不适合新的检测系统。
4. 使用亲和素/生物素检测系统时, 避免使用牛奶作为封闭试剂, 因为牛奶中含有不定量的内源性生物素, 会导致高背景信号。
5. 保证洗涤缓冲液、封闭缓冲液、抗体溶液和底物工作液的使用体积, 以确保在整个实验过程中印迹膜完全被液体覆盖, 避免膜变干。增大封闭缓冲液及洗涤缓冲液的使用量可以降低非特异性的信号。
6. 为获得最佳效果, 在孵育步骤请使用摇床。
7. 将Tween20(终浓度0.05-0.1%)加入封闭缓冲液和稀释的抗体溶液, 以降低非特异信号。使用高品质的产品, 如去污剂。它保存在安瓿中, 过氧化物和其他杂质含量很低。
8. 不要使用叠氮钠作为缓冲液的防腐剂。叠氮钠是HRP的抑制物。
9. 避免手与膜直接接触, 实验过程应戴手套或使用干净的镊子。
10. 所有设备必须清洁且不沾染外来物质。金属器械(如剪刀)不得具有可见的锈迹。锈迹可能导致斑点形成和高背景。
11. 底物工作液在室温下可稳定8小时。日光或任何其他强光下可能损害底物, 为获得最佳结果, 将底物工作液保存在琥珀色瓶中, 并避免长期暴漏在任何强光下, 短时间暴漏于实验室常规照明不会损害该工作液。

操作概述:

注: 优化抗原和抗体的浓度。必须使用建议的抗体稀释度, 以保证阳性结果。有关建议的稀释度范围请参考其他所需材料。

1. 将一抗浓度稀释到1ng至0.2μg/mL (以1μg/mL储存液稀释1:5,000至1:100,000倍)
2. 将二抗浓度稀释到2ng至10ng/mL (以1μg/mL储存液稀释1:100,000至1:500,000倍)
3. 将两种底物组份按1:1比例混合, 制备底物工作液。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

注：暴漏于日光或任何其他强光可能损害工作液，为获得最佳结果，将此工作液保存在琥珀色瓶中，并避免长期暴漏于任何强光。短时间暴漏于实验室常规照明不会损害该工作液。

4. 将印迹膜在West Femto ECL底物工作液中孵育5分钟。
5. 吸出多余试剂。用清洁的塑料膜盖住该印迹膜。
6. 使印迹膜在X光胶片上曝光。

蛋白印迹法详细操作步骤：

1. 将印记膜从蛋白转印设备中取出，加入合适的封闭液在温室下孵育 20-60分钟，同时振荡。以封闭膜上非特异性蛋白结合位点。

请注意：使用在前文建议的抗体稀释度是非常重要的。

2. 将膜从封闭液中取出，与一抗工作液在温室孵育1小时，同时振荡；或在28℃孵育过夜，不振荡。
3. 将足量的洗涤缓冲液加至膜上，保证缓冲液将膜完全覆盖。振荡孵育≥5分钟，更换洗涤缓冲液并重复该步骤4-6次。增加洗涤缓冲液体积，洗涤次数和洗涤时间有助于降低背景信号。

注：孵育前，膜在洗涤缓冲液中的短暂淋洗会提高洗涤效率。

请注意：使用在前文建议的HRP标记二抗稀释度是非常重要的。

4. 将HRP标记的二抗工作液与膜在温室孵育1小时，同时振荡。
5. 重复步骤3，以除去未结合的HRP标记二抗。

注：膜与HRP标记二抗孵育后必须进行彻底洗涤。

6. 将A溶液与B液等比例混合，制备成工作液。每cm²膜使用0.01~0.1ml工作液。工作液可以在温室下稳定8小时。

注：暴漏雨日光或任何其他强光下可能损害工作液，为获得嘴角结果，将此工作液保存在琥珀色瓶中，并避免长期暴漏雨任何强光。实验室的常见照明不会损害工作液。

7. 将印记膜在工作液中孵育5分钟。
8. 从工作液中取出印记膜，并置于一个塑料片或清洁的塑料纸（膜）中，用一张吸水纸吸除多余的液体，并从印记和塑料纸之间小心地压出气泡。
9. 将包在塑料纸（膜）中的印记膜置于胶片暗盒中，蛋白质面朝上，除适用于胶片曝光的灯（如红色安全灯）之外，关闭所有的灯。

注意：胶片必须在曝光期间保持干燥，为获得最佳效果，采取以下措施：

* 确保将多余的底物从膜和塑料纸上完全去除。

* 在整个胶片处理期间，使用手套。

* 切莫将印记膜置于已显影的胶片上，因为胶片上的化学物质会减弱信号。

10. 将X光胶片置于膜的上面。建议第一次曝光60秒。之后可调整曝光时间以达到最佳结果。化学发光反应在底物孵育后的前5-30分钟期间是最强烈的。这一反应可以持续几个小时，但强度会随时间下降，如有底物孵育后较长时间后曝光，曝光时间可能需要延长以获得较强信号。如果使用磷光存储成像设备（如Bio-Rad的分子成像仪系统）或CCD照相机可能需要较长的曝光时间。

注意：胶片与膜之间的任何移动可能在胶片上造成人为的非特异信号。

11. 使用合适的显影剂和定影剂对胶片进行显影。如果信号太强，则缩短曝光时间或将印记膜进行剥离并降低抗体浓度重新检测。

保存：室温运输，收到后在4℃避光下储存试剂。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com