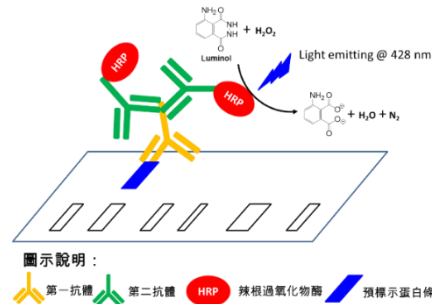


歲秀® WestShow®

超高敏型/長效型 ECL 冷光套組使用說明

High Sensitive/Prolonged ECL Kit Instructions

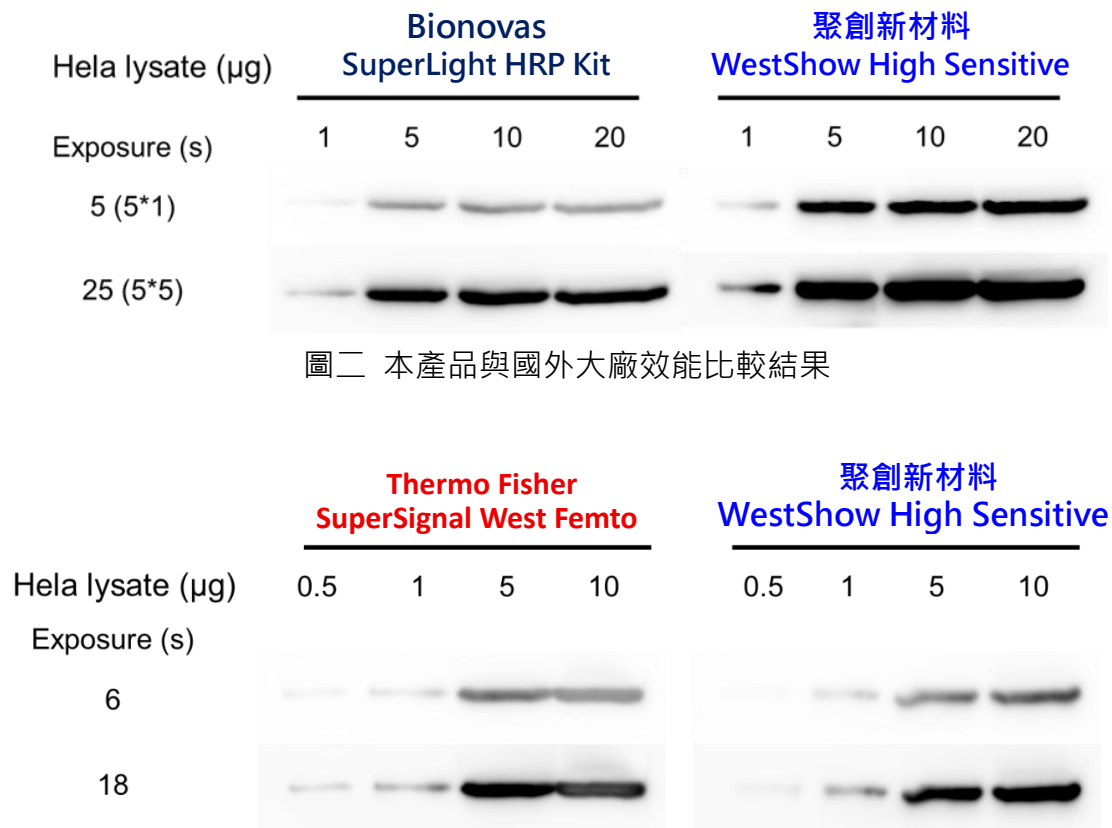
產品介紹



圖一 西方轉漬法冷光放光原理說明圖

如圖一，蛋白混合物以電泳分開後，將欲標示蛋白以專一性一級抗體結合，再摻入以辣根過氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)修飾之二級抗體，並與一級抗體結合。HRP 在雙氧水的存在下，催化魯米諾(Luminol)，產生藍色(428 nm)波長光線，利用數位相機觀測，或 X-光底片曝光，即可觀測到標示蛋白質條帶。

本產品由我們自行研製，完全在台灣生產製造，產品效能與試劑靈敏度媲美國外大廠(圖二與圖三)，更重要的是，我們價格優惠，是您在研究上最好的選擇。



圖三 本產品與國外大廠效能比較結果

套組運送與保存資訊

產品名稱	包裝大小	運送資訊	包裝開封前保存資訊
WestShow High Sensitive ECL Kit (貨號：293HS)	50 mL x 2	室溫運送	4 °C 冷藏保存。正確保存狀況下，可存放半年。
WestShow Prolonged ECL Kit (貨號：293PL)	100 mL x 2	室溫運送	4 °C 冷藏保存。正確保存狀況下，可存放半年。

注意：產品可能因為運送或存放溫度過低，而使溶液中緩衝鹽類析出，可在室溫下放置一段時間後，稍微搖晃，即可恢復。此現象並不會影響產品效能。

使用者須自行準備材料

1. 蛋白質轉漬之 PVDF 或是硝化纖維素薄膜 (NC membrane)。
2. TBS 阻斷液或是 PBS 阻斷液 (詳細配置說明請參考下述使用步驟)。
3. TBST 沖洗液 (詳細配置說明請參考下述使用步驟)。
4. 一級抗體稀釋液：將一級抗體以所使用之阻斷液稀釋。
5. 二級抗體 (與 HRP 結合) 稀釋液：將二級抗體以所使用之 TBST 沖洗液稀釋。

使用步驟

1. 蛋白質轉漬後，從轉移裝置上取下薄膜，並用阻斷液，阻斷非特異性位點：將薄膜浸泡在阻斷液中，在室溫下振盪孵育 1 小時，或在 4°C、靜置過夜。

注意：阻斷液可選用 TBS 阻斷液：TBS 緩衝液、0.05-0.1% Tween 20 水溶液和 2-5% 牛血清白蛋白 (BSA) 水溶液；或是，PBS 阻斷液：PBS 緩衝液、0.05-0.1% Tween 20 水溶液和 2~5% BSA 水溶液。

注意：根據所使用的一級抗體，可將阻斷液中的 BSA 水溶液置換成 5% 的脫脂奶粉水溶液。

2. 移除阻斷溶液，並添加稀釋的一級抗體稀釋液。在室溫下振盪孵育 1 小時。
3. 使用 TBS 緩衝液和 0.05~0.1% Tween 20 水溶液之混合沖洗液 (TBST 液) 洗滌 3 次，每次洗滌 5 分鐘。
4. 將薄膜與稀釋的二級抗體 (與 HRP 結合) 稀釋液在室溫下溫和振盪 1 小時。
5. 用 TBST 液洗滌 3 次，每次洗滌 5 分鐘。增加清洗次數，可能有助於降低背景。
6. 配置工作液：混合等體積的魯米諾水溶液(藥劑 A，黑色罐身)和過氧化氫水溶液(藥劑 B，白色罐身)來製備工作溶液。視盛裝薄膜的容器大小，混合恰好足以覆蓋膜的工作液，例如，每 7 cm × 8.5 cm 薄膜約需 7 ml 的工作液；8.5 cm x 13.5 cm 薄膜約需 12 ml 的工作液)。

注意：雖然工作液在室溫下約可保持 1 小時的穩定性，但為了獲得最佳實驗結果，混合後應立即使用工作溶液。

7. 將工作液倒入盛裝薄膜的容器中，工作液須覆蓋過薄膜，在室溫、靜置下將薄膜孵育 1 - 5 分鐘。
8. 從工作溶液中以鑷子取出薄膜，用吸水紙巾將多餘的工作液吸乾，然後以透明塑料保護膜包覆。
9. 在具有安全光線的暗房中，將覆蓋的薄膜放在底片盒中，轉印蛋白面朝上。將 X 射線底片放在薄膜的上方，曝光 1 分鐘。可以增加或減少曝光時間以獲得最佳結果；或是直接以數位照相設備觀測條帶。冷光在反應後立即發出冷光，並隨時間增加逐漸減少。

困難排除

問題點	可能原因	解決方式
高背景	阻斷不完全	提高阻斷液中 BSA 或脫脂奶粉的濃度；或是延長阻斷時間。
	洗滌不完全	增加洗滌次數，洗滌時間。
	一級或是二級抗體濃度太高	1. 降低一級或是二級抗體濃度。 2. 可另外使用單點轉漬方式，測試最佳的一級與二級抗體濃度。
出現中空條帶(甜甜圈狀條帶)	欲標示之蛋白區域，冷光基質消耗殆盡	1. 欲標示之蛋白濃度太高，使連結的 HRP 濃度太高，冷光基質消耗殆盡。可以降低一級抗體，或是二級抗體濃度。 2. 將低蛋白樣品的濃度。
沒有訊號，或是訊號微弱	清洗過程中，蛋白從薄膜上被清洗下來	降低洗滌次數，洗滌時間。
	蛋白與薄膜間吸附力不佳	1. 降低一級與二級抗體的濃度。 2. 在轉漬後，將凝膠染色，測試殘存蛋白的量，以確認轉漬的效果。 3. 一些全蛋白染劑，像是氨基黑(amido black)，奈米金(Colloidal gold)，可能會影響一級抗體與蛋白的結合，須謹慎使用。 4. 調整阻斷液。脫脂奶粉水溶液可能會造成靈敏度下降；BSA 水溶液或許可以提高靈敏度，但也有可能造成背景值太高，或是抗體與蛋白的非特異性結合。
	蛋白與第一抗體結合不佳	1. 介面活性劑(Tween 20)可能造成蛋白與第一抗體的結合性不佳。可降低濃度，或是完全移除介面活性劑來進行測試。 2. 增加一級抗體的孵育時間。
	不合適的試劑添加量	改變阻斷液、抗體稀釋液或是沖洗液體積。
	HRP 失效	1. 測試 HRP 的活性。 2. HRP 在固定的 pH 下，反應性相當強。在加入工作液前，請確定過量的沖洗液已經移除。 3. 疊氮化鈉(NaN_3)可能會抑制 HRP 的活性。須注意抗體保存液中，是否含疊氮化鈉。
應該出現訊號處卻呈現空白	操作過程中，薄膜可能有乾掉的情況	轉漬過程中，或是冷光基質呈色過程中，避免操作不當，使氣泡貼附在薄膜上，造成呈色不均。

聚創新材料股份有限公司

IMT Formosa New Materials Co., Ltd.

電話 Phone: 0926-159317

電郵 Email: polycreatives@outlook.com

聯絡人 Contact: Peter Hsu

