

SuperSignal SuperDura Extended Duration Substrate

持久性化学发光底物

产品简介

YEASEN ECL 系列发光试剂盒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。其原理是, 蛋白质或核酸在电泳后转移到印迹膜上, 以一抗及 HRP 标记的二抗结合膜上的目的蛋白, 或以 HRP 标记的探针直接或间接结合膜上的核酸。洗膜后用本产品配制的 ECL 工作液, 室温孵育膜数分钟, 将印迹膜用保鲜膜包裹粘固于 X 光片曝光暗盒。然后转入暗室将 X 光胶片压在膜上曝光数秒到数小时, 显影定影后蛋白质或核酸条带可清晰显示在 X 光胶片上。

本试剂盒(SuperSignal SuperDura Extended Duration Substrate)采用了独特的发光/增强底物系统, 可实现中等飞克级的免疫印迹检测。除用于 X 光片, 还可通过 CCD 成像仪检测

产品信息

产品名称	组分编号	规格
SuperSignal SuperDura Extended Duration Substrate 持久性化学发光底物	36223ES10	10 mL
	36223ES60	100 mL
	36223ES70	200 mL
	36223ES76	500 mL

产品特点

1. 具有极高灵敏度和高信噪比, 可检测中等飞克级抗原;
2. 信号可持续 **24 小时**, 发光时间比常规 ECL 底物长 10 倍以上; 可通过多次曝光获得用于发表论文的高品质印迹图像;
3. 可使用较高的抗体稀释倍数, 大大节省抗体:
一抗 (储液浓度 1mg/ml) 稀释倍数: 1:1000-1:50000;
二抗 (储液浓度 1mg/ml) 稀释倍数: 1:50,000-1:250,000。

产品组分

组分编号	组分名称	36223ES10 (10 mL)	36223ES60 (100 mL)	36223ES70 (200 mL)	36223ES76 (500 mL)
36223-A	A 液	5 mL	50 mL	100 mL	250 mL
36223-B	B 液	5 mL	50 mL	100 mL	250 mL

储存条件

2~8°C 保存。有效期 1 年。【注】: A 液 (36223-A) 需避光保存!

使用说明

【较理想的 Western blot 结果需要优化所涉及的所有实验环节, 如样品上样量、凝胶类型、转膜方法、膜类型、封闭试剂、一抗浓度、二抗浓度及相应孵育时间等。另外, 每个环节尽量提供足量的孵育试剂, 以避免膜干燥。】

1. 执行常规电泳、转膜、HRP 标记抗体或者 HRP 标记核酸探针孵育、洗膜。

【注】：ECL 发光液是 HRP 的显色底物，因此检测系统最终必须基于 HRP 酶标记抗体或者核酸探针。

2. 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 A 液和 B 液，混匀后，室温放置备用。

【注】：取 A 液和 B 液一定要用不同的枪头。

3. 用平头镊取出膜，搭在滤纸上沥干洗液，勿使膜完全干燥。将膜完全浸入发光工作液（100~200 μ l 发光工作液/cm² 膜）中，与发光工作液充分接触。室温孵育 3-5 分钟，准备立即压片曝光。。

【注】：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，但勿降低发光液使用比例。

4. 用平头镊子夹起膜，膜的下缘轻轻接触吸水纸，去除膜上多余的液体，留下少量工作液，不可让膜完全干燥。不可洗去发光液。

5. 在 X 光胶片暗盒内表面铺一张面积大于膜的保鲜膜。将印迹膜贴在保鲜膜上，将保鲜膜折起来完全包裹印迹膜，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。用胶带将覆盖印迹膜的保鲜膜固定在暗盒内，蛋白带面向上。

6. 暗房内取一张 X 光胶片至于包裹的膜上，压片，分别曝光不同的时间，如数秒到数分钟，定影显影冲洗。

【注】：曝光时间需根据曝光强度做相应的调整。若是背景过高，可使用两张 X 光胶片同时压片。

注意事项

1. 步骤 1~5 可在日光灯下操作；但发光液暴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。戴手套可以避免在膜上留下手印，保持膜的干净。
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，因此弱带可曝光 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. 推荐大多数进口抗体起始浓度为一抗 1:1000-1:50000，二抗 1:50,000-1:250,000。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. 避免将多张膜置于同一个洗膜盒内洗膜，相互吸附或摩擦可能造成很深的背景。
7. 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。
8. 使用生物素-亲和素系统，避免使用牛奶封闭，可能会导致背景过高。
9. 叠氮化钠（NaN₃）能抑制 HRP 活性，若回收 HRP 标记探针或者抗体应避免使用 NaN₃，如必需使用勿超过 0.01%。
10. 金属氧化物颗粒可能会造成膜上出现颗粒状斑点，避免使用带有锈迹的剪刀以及镊子，建议使用塑料的平头镊子。
11. 本品无特殊毒性，按普通化学品处理。
12. 本产品仅作科研用途！
13. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。