

Superbrilliant[®] 超敏 Plus ECL 化学发光底物**Superbrilliant[®] Super Plus ECL Substrate**

Cat. No.: ZS-PR22004

组分

货号	组分	ZS-PR22004S	ZS-PR22004M	ZS-PR22004L
102011	Super Plus ECL A	50 ml	125 ml	250 ml
102012	Super Plus ECL B	50 ml	125 ml	250 ml
	说明书	1 份	1 份	1 份

储存: 2-8°C, Super ECL A 要求避光保存, 有效期两年。

简介: Superbrilliant[®] 超敏 ECL 化学发光底物用于 Western、Northern 和 Southern blot 分子杂交的化学发光检测, 比传统化学显色法灵敏度高, 可达 pg 水平。该产品基于新一代增强型化学发光底物研制而成, 采用新型发光底物 (Luminol), 用于检测辣根过氧化物酶 HRP 标记的抗体及其关联的抗原, 其与二抗上偶联的辣根过氧化物酶反应时产生发光信号强烈持久, 在暗室中对 X-光片感光或者用化学发光成像仪进行检测, 可用于检测固定在膜上的蛋白质等生物大分子, 可以此检测微量蛋白而获得理想的实验结果。发光液 A 主要成分为 Luminol 及特制发光增强剂, 发光液 B 主要成分 H_2O_2 及特殊稳定剂。发光液 A 与 B 在辣根过氧化物酶 (HRP) 的催化作用下, 鲁米诺与过氧化氢反应生成一种过氧化物, 过氧化物不稳定随机分解, 形成一种能发光的电子激发中间体, 当后者由激发态返回至基态, 就会产生荧光。增强型 ECL 显色液具有灵敏度高, 持续时间长等特点。

应用

在 Western 印迹分析, 核酸杂交以及 EMSA 实验中, HRP 标记的二抗或探针与靶分子结合再与底物反应产生可见光。

操作方法 (以 Western Blot 为例)

1. 按每平方厘米膜面积用 0.1-0.2 ml 配置显色液: 根据显色液的需要量, 取等体积 A 液和 B 液, 混匀后避光保存备用; 该显色液必须现配现用。
2. 取出膜, 平放在干净的保鲜膜上, 膜的正面 (蛋白质面) 朝上, 在膜的中央加适量的配置好的显色液 (6×8 cm 的膜加 2 ml 显色液), 溶液向四周迅速扩散,

覆盖所有膜面。室温保温 5 分钟左右,在此过程中请仔细观察信号的出现。注意:如果信号强,在暗室中能很快看到阳性信号出现。

3. 待信号出现且稳定后,用镊子夹起膜,除去多余的显色液,平放在干净的保鲜膜上,膜的正面(蛋白质面)朝上,在转移膜的上面再覆盖一层保鲜膜,除去保鲜膜与转移膜之间的空气泡,请务必保证保鲜膜是干净的,不被其他杂物或液体污染。

4. 在暗室中,将膜的正面对 X-光片,放入暗盒。第一次曝光时间在 1 分钟左右(有经验的操作者可以根据信号的强弱自行决定),立即按要求对 X-光片进行显影和定影,确定最佳曝光时间。曝光时间从数秒到数小时不等;特别弱的过夜曝光也可。

注意

1. PVDF 膜较硝酸纤维膜能更好的结合蛋白,因此呈现较强的信号。选高质量的 PVDF 膜;尽可能不用 Nylon 膜。

2. 与抗体结合以后,要保证膜处于湿润状态,否则会导致背景较高。

3. 没有信号的原因:有些抗体不识别变性抗原,有时需要考虑电泳过程对蛋白质结构的影响;样品中无待测蛋白质或含量过低;一抗效价低,用量少,可适当增加一抗的用量;

4. 背景过高原因:转移膜封闭不充分;与抗体孵育后洗涤不彻底;膜在处理过程中过干;二抗用量过多等。

5. 注意及时更换显影液、定影液。

6. A 液和 B 液在吸取过程中必须要更换枪头, A 液和 B 液相互污染后会导致 A 液或 B 液逐渐失效, 影响后续的使用效果。

7. 开始反应后的 30 分钟内荧光更强一些, 随后荧光会逐渐减弱, 因此请注意充分利用这荧光较强的 30 分钟进行压片。

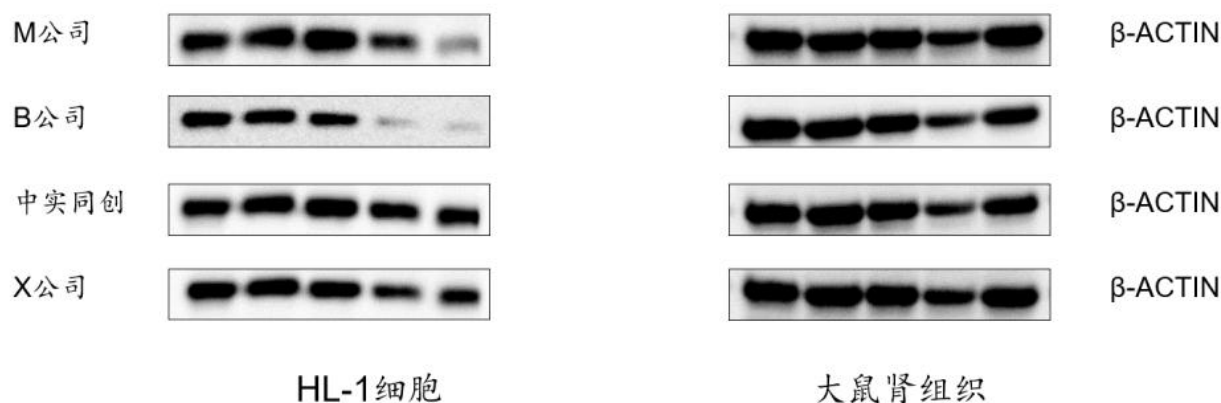


Fig 1. Western blot 检测 HL-1 细胞、大鼠肾组织裂解的 β -actin 蛋白, 应用 ECL 发光液分别显色, 一抗为 β -actin 鼠单抗 1: 1000 稀释。