

Sunview®-ECL 特超敏发光液

PL101-100

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Sunview®-ECL 特超敏发光液	PL101-100	50ml+50ml

产品简介

Sunview®-ECL 底物可为使用辣根过氧化物酶(HRP)偶联物的免疫印迹实验提供明亮的信号, 由于采用了 Sunview 关键的核心技术基于“荧光震荡”机理设计的发光底物系统。可通 HRP 实现实现低皮克级和飞克级(以 HRP 浓度为标准)的免疫印迹检测, 其灵敏度, 发光时间和背景均明显优于 T 公司和 M 公司。该 ECL 底物能够兼容各种膜、封闭液和宽范围抗体稀释液, 以出色性能、通用性和高性价比, 满足用户的免疫印迹应用需求。

Sunview®-ECL 底物的特点:

- Sunview®-ECL —用于辣根过氧化物酶(HRP)的增强型化学发光底物
- 低皮克级灵敏度—检测硝化纤维素膜或 PVDF 膜上低皮克级的蛋白条带
- 长信号持续时间— 在条件优化情况下, 经底物孵育的印迹条带能够持续输出 6 至 8 小时的可检测光信号
- 稳定试剂— 工作液在 24 小时内保持稳定; 试剂盒在室温下可稳定放置长达 1 年
- 价格经济— 针对稀释的抗体浓度条件进行了优化:
- 0.2 至 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 一抗 (以 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 储存液稀释 1:1,000 至 1:5,000 倍)
- 10 至 50 ng/mL 二抗 (以 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 储存液稀释 1:20,000 至 1:100,000 倍)

储存条件及保质期

室温运输, 收到后在 4°C 避光下储存试剂, 24 个月。

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 0.2 ~ 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$
- 2) 将二抗浓度稀释到 10 ~ 50 ng/mL
- 3) 将两种底物组份按 1:1 比例混合, 制备底物工作液。

注: 暴露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, 并避免长期暴露于任何强光。短时间暴露于实验室常规照明不会损害该工作液。

- 4) 将印迹膜在 Sunview®-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) 将印迹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°C 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 cm^2 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：暴露于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，并避免长期暴露于任何强光。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：胶片必须在曝光期间保持干燥，为获得最佳效果，才去一下措施：

- * 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。

警告：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。