

ScibenECL Dura 超敏化学发光试剂盒说明书

一、产品描述

善本生物 ScibenECL Dura 超敏化学发光液是一款超灵敏持久型 ECL 化学发光辣根过氧化物酶 (HRP) 偶联物的免疫印迹分析实验提供明亮信号的试剂盒, 可为用户在免疫印迹分析过程中实现极强的持久信号输出将中飞克级的蛋白抗原得到检测。其灵敏度和可持久性比其它相同种类的化学发光产品更好, 为获得底物的最佳效果, 抗体须比其他那些底物一起使用时浓度更低。ScibenECL Dura 超敏化学发光液可以兼容各种膜、封闭液和宽范围抗体稀释液; 信号的敏感度、强度和持续时间使利用照相或者其他成像方式提供最佳条件。印迹膜可以反复在胶片上曝光以获得最佳效果, 也可以先将膜上的免疫检测试剂进行剥离并重新检测。

ScibenECL Dura 超敏化学发光液特点:

1. ECL: 用于 HRP 的超灵敏持久型化学发光底物;
2. 中飞克级灵敏度: 检测硝化纤维素膜或 PVDF 膜上中飞克级 (Femtogram, 10^{-14}) 的蛋白条带;
3. 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 24 小时的可检测光信号, 特别适用于痕量蛋白或核酸检测;
4. 稳定试剂: 工作液室温下 24 小时有很好的稳定性; 试剂盒在 4°C 密封避光下可稳定放置长达 1 年;
5. 价格更经济: 相比其他品牌的类似产品, 不仅具有高品质和高性能, 同时价格也更低;
6. 稀释倍数更高: 可使用更高的抗体稀释倍数, 极其节省抗体。例如: 10~100 ng/ml 一抗 (以 1 mg/ml 储存液稀释 1:10000~1:100000 倍), 5~10 ng/ml 二抗 (以 1 mg/ml 储存液稀释 1:100000~1:200000 倍)。

二、用途

用于 HRP 标记抗体的 Western Blot 和 HRP 标记探针的核酸杂交。

三、使用方法

1、执行常规 SDS-PAGE、转膜和 Western Blot 步骤。注意用 HRP 标记 IgG 或用一抗-链亲和素-生物素-HRP 夹法。

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。

- 1) 将一抗浓度稀释到 10~100 ng/ml;
- 2) 将二抗浓度稀释到 5~10 ng/ml;
- 3) 将 A 液和 B 液两种组份按 1:1 比例混合, 制备发光工作液;

(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 ECL 发光工作液中孵育 3-5 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。

2、Western Blot 最后一次洗膜的同时新鲜配制发光工作液: 分别取等体积的溶液 A 和 B, 放入干净容器中混合。建议立即使用工作液, 室温放置数小时后仍可使用但灵敏度略有降低。

3、用镊子取出膜, 搭在滤纸上沥干洗液但勿使膜完全干燥。将膜完全浸入发光工作液 (0.01~0.1 ml 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。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用量。

4、用镊子夹起膜, 搭在滤纸上沥干发光工作液。但勿洗去发光液。

5、打开 X 光胶片暗盒, 在暗盒内表面铺一张面积大于膜的保鲜膜。将 Western blot 膜贴在保鲜膜上, 将保鲜膜折起



南京善本生物技术有限公司

Nanjing Sciben Biotech Co., Ltd.

来完全包裹 Western Blot 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 Western Blot 膜的保鲜膜固定在暗盒内，蛋白带面向上。

6、暗房内压 X 光胶片，分别曝光不同的时间如数秒到数分钟。显影冲洗。

四、储存方法

4 °C密封避光保存 1 年以上。短期可放置室温。

五、安全性

无特殊毒性，按普通化学品处理。

六、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之。戴手套可以避免在膜上留下手印。
- 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，因而弱带可曝光 1-24 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、由于超敏发光液极其灵敏，强烈推荐大多数进口抗体起始浓度为一抗 1:5000~1:20000，二抗 1:20000~1:50000。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、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。
- 7、叠氮钠 (NaN_3) 能抑制 HRP 活性，回收第二抗体应避免使用 NaN_3 ，如必需使用勿超过 0.01%。

南京善本生物技术有限公司

网址: <http://www.sciben.com>

电话: 025-85390309; 025-85300038

产品订购: sales@sciben.com

技术支持: support@sciben.com

产品编号: MR1007

生产批号:



善本生物网站



微信公众号