

SuperSignal MaxiSignal Maximum Sensitivity Substrate

最高灵敏度化学发光底物

产品信息

产品名称	产品编号	规格	储存
	36224ES10	10ml	4℃
SuperSignal MaxiSignal Maximum Sensitivity Substrate	36224ES60	100ml	4℃
最高灵敏度化学发光底物	36224ES70	200ml	4℃
	36224ES76	500ml	4℃

产品描述

翊圣 SuperSignal MaxiSignal Maximum Sensitivity Substrate 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被粘贴固定于 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。

本试剂盒采用了独特的发光/增强底物系统, 降低曝光背景的同时引入新型的氧化剂, 大大提高试剂盒的稳定性, 可实现低飞克级的免疫印迹检测。除用于 X 光片, 还可用于自动成像系统。

产品特点

- 1) 具有极高灵敏度和高信噪比, 可检测低飞克级抗原;
- 2) 持续发光时间长, 荧光可使 X 光胶片感光达 8 小时以上, 特别适用于痕量蛋白或核酸检测;
- 3) 可使用更高的抗体稀释倍数, 大大节省抗体:
 - 一抗 (储液浓度 1mg/ml) 稀释倍数: 1:5000-1:100000;
 - 二抗 (储液浓度 1mg/ml) 稀释倍数: 1:100,000-1:500,000。

产品组分

组分编号	组分名称	产品编号/规格			
		36224ES10 (10ml)	36224ES60 (100ml)	36224ES70 (200ml)	36224ES76 (500ml)
36224-A	MaxiSignal ECL-A 液	5ml	50ml	100ml	250ml
36224-B	MaxiSignal ECL-B 液	5ml	50ml	100ml	250ml

运输与保存方法

常温运输。4℃ 保存。【注】: A 液 (36224-A) 需避光保存! 有效期 1 年。

操作方法

【较理想的 Western blot 结果需要优化所涉及的各个实验环节, 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) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 2) 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。
- 3) 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。
- 4) 发光工作液孵育约 3-5 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。
- 5) 由于发光液灵敏度高, 强烈推荐大多数进口抗体起始浓度为一抗 (储液浓度 1mg/ml) 稀释倍数: 1:5000-1:100000; 二抗 (储液浓度 1mg/ml) 稀释倍数: 1:100,000-1:500,000。抗体浓度过高将造成高背景或没有条带, 导致失败。
- 6) 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。
- 7) 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。
- 8) 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。
- 9) 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。
- 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) 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。
- 12) 本品无特殊毒性, 按普通化学品处理。

附 常见问题及解答

胶片成像相反(如白色条带, 黑色背景)	检测体系 HRP 过量	进一步稀释 HRP 偶联试剂。
膜上呈现棕色或黄色条带		
避光条件下膜上具有发光斑点		
信号持续时间少于 8h		
信号较弱	检测体系 HRP 过量导致消耗更多底物, 导致信号减弱	进一步稀释 HRP 偶联试剂。
	抗原抗体量较少	增大抗体和抗原的使用量。
	转膜效果不佳	优化转膜条件, 提高转膜效率。
背景较高	HRP 酶活力或底物活力下降	于暗室中准备 1-2ml 本品制备的发光液, 关灯后, 加入 1 μ l 待检测 HRP 标记物, 该混合液会立即产生蓝色的光, 且在后继几分钟内消退。如果没有, 请检测另 1 支 HRP 标记物进行进一步检测。
	检测体系 HRP 过量	进一步稀释 HRP 偶联试剂。
	封闭不充分	优化封闭条件。
	封闭剂不合适	换用合适的封闭剂。
	清洗不充分	增加清洗此时, 延长清洗时间。
	胶片曝光过度	降低曝光时间。
	抗原或抗体浓度较高	降低抗原抗体使用量。
抗体质量差	换用高质量抗体。	
蛋白条带内有斑点	转膜不充分	优化转膜条件。
	膜水化不充分	按照厂家说明书优化膜的水化条件。
	膜和胶片间存在气泡	赶走气泡。
曝光胶片上呈现斑点背景	HRP 标记物形成聚合物	用 0.2 μ m 滤膜过滤 HRP 标记物。
非特异性条带	检测体系 HRP 过量	进一步稀释 HRP 偶联试剂。
	SDS 造成非特异性结合	转膜后洗膜, 去除 SDS。
	抗体质量差	换用高质量抗体。
	封闭不充分	延长封闭时间或换用合适封闭剂。

相关产品

36222ES60	Enhanced ECL Chemiluminescent Substrate Kit 增强型 ECL 化学发光检测试剂盒	100ml
36222ES76	Enhanced ECL Chemiluminescent Substrate Kit 增强型 ECL 化学发光检测试剂盒	500ml
36222ES80	Enhanced ECL Chemiluminescent Substrate Kit 增强型 ECL 化学发光检测试剂盒	1000ml
36208ES60	Super ECL Detection Reagent ECL 化学发光超敏显色试剂盒	100ml
36208ES76	Super ECL Detection Reagent ECL 化学发光超敏显色试剂盒	500ml
36208ES80	Super ECL Detection Reagent ECL 化学发光超敏显色试剂盒	1000ml
36223ES60	SuperSignal SuperDura Extended Duration Substrate 持久性化学发光底物	100ml
36223ES70	SuperSignal SuperDura Extended Duration Substrate 持久性化学发光底物	200ml
36223ES76	SuperSignal SuperDura Extended Duration Substrate 持久性化学发光底物	500ml
36224ES60	SuperSignal MaxiSignal Maximum Sensitivity Substrate 最高灵敏度化学发光底物	100ml
36224ES70	SuperSignal MaxiSignal Maximum Sensitivity Substrate 最高灵敏度化学发光底物	200ml
36224ES76	SuperSignal MaxiSignal Maximum Sensitivity Substrate 最高灵敏度化学发光底物	500ml