

Femto-Sensitive ECL Solution

SmartBuffers® 超敏化学发光液



Features 产品特点:

- ✓ 超灵敏: 含独特的发光增强剂, 发光灵敏度超高。
- ✓ 低背景: 含精准的发光底物, 提高信噪比, 灵敏度更高背景却更低。
- ✓ 信号强: 有独特的发光配方, 发光时间长达 6 小时以上, 轻松进行曝光操作。
- ✓ 稳定: 含独特的发光稳定剂, 室温下密封避光保存有效期 1 年, 2-8°C 储存长达 2 年。

Description 产品描述:

SmartBuffers® Femto-Sensitive ECL Solution 是一种基于 Luminol 的高灵敏性、非放射性化学发光底物, 用于检测免疫印迹中固定在膜上的辣根过氧化物酶 (HRP), 最低可检测飞克级别的抗原。持续发光时间长达 6 个小时, 可反复曝光于 X 射线胶片或化学发光成像系统, 以获得最佳的结果或剥离的免疫检测试剂和再探测。

SmartBuffers® Femto-Sensitive ECL Solution 可用于 Western Blot, Northern Blot, Southern Blot, Dot Blot 等实验中检测 HRP 标记的探针或者抗体。

Preparation 使用说明:

1. 常规电泳、转膜、HRP 标记抗体或核酸探针孵育、洗膜。注意用 HRP 标记 IgG 或用一抗-链亲和素-生物素-HRP 夹法。核酸杂交膜用 HRP 标记探针杂交, 洗膜。
2. 洗涤膜上的 HRP 标记二抗时, 新鲜配制发光工作液: 分别取等体积的溶液 Luminol/Enhancer solution 和 Stable Peroxide Buffer 1:1 混合, 放置使之升到室温否则会减弱荧光强度。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。将膜完全浸入并与发光工作液(0.125ml 发光工作液/cm 膜)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。
5. 在 X 光胶片暗盒内面铺一张面积大于膜的保鲜膜。将杂交膜贴在保鲜膜上, 将保鲜膜折起来完全包裹杂交膜, 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。用胶带将覆盖杂交膜的保鲜膜固定在暗盒内, 最好蛋白带面向上。
6. 在黑暗中放入 X 光胶片, 分别曝光不同的时间如数秒到数分钟。显影冲洗。

Storage and stability 存储及效期:

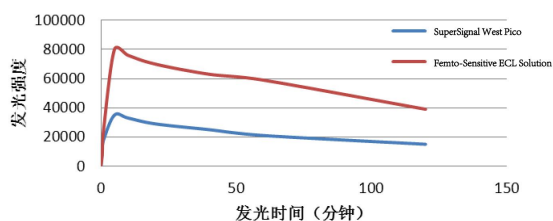
室温 (2-30°C) 避光干燥密封保存及运输, 有效期长达 1 年; 冷藏 2-8°C 避光干燥密封保存, 有效期长达 2 年。

注意事项:

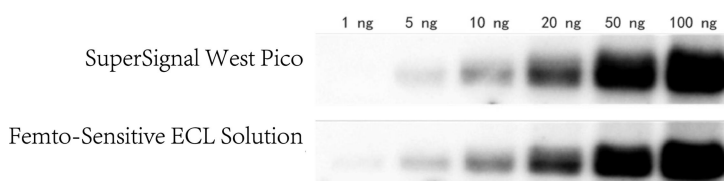
1. 为获得最佳实验结果, 请务必优化实验条件, 包括检测样品的用量、一抗、二抗稀释度以及杂交膜及封闭试剂的选择;
2. 由于牛奶中含有内源性生物素, 在使用亲和素/生物素系统时, 封闭液中请避免使用奶粉;
3. 在封闭缓冲液及所有抗体稀释液中加入高质量的吐温-20 (终浓度为 0.05 %), 以减少非特异性结合;
4. 由于叠氮钠是 HRP 抑制剂, 在缓冲液中避免使用叠氮钠作为防腐剂;
5. 整个免疫印迹实验过程请确保印迹膜始终处于湿润状态, 避免干燥;



- 为获得最佳实验效果，抗体孵育及膜洗涤步骤中请使用摇床辅助完成；
- 在膜操作过程中请带手套操作或者使用干净的镊子，避免蛋白污染；
- 实验过程中，请使用干净的器材。保证非金属设备没有明显划痕，金属设备表面无锈。锈可能导致膜上带有污点或者高背景；
- 避光条件下，配制好的化学发光检测底物工作液可在室温下稳定 8 小时。如暴露于阳光或其他强光下，工作液会受影响。为获得最佳效果，可于棕色瓶中配制工作液，避免强光长时间的照射。正常实验室灯光短时间照射不影响工作液的使用；
- 蛋白过量或长时间曝光，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；
- 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 1-10 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；
- 某些市售保鲜膜包裹印迹膜时会淬灭荧光，应选择高质量保鲜膜，例如“克林莱”牌子保鲜膜。



化学发光仪检测发光强度对比图



Western Blot 胶片曝光强度对比图

Product information 产品信息:

目录编号 Article No.	产品名称 Product Name	包装规格 Pack Size	对应体积 Solution Vol.
ECL-0100	Femto-Sensitive ECL solution	50mL Luminol/Enhancer solution	100mL/Set
	超敏化学发光液	50mL Stable Peroxide Buffer	
ECL-1000	Femto-Sensitive ECL solution	500mL Luminol/Enhancer solution	1000mL/Set
	超敏化学发光液	500mL Stable Peroxide Buffer	

Associated Products 相关产品

Product name 产品名称 Page No. 页码

PBS-Tween 磷酸盐缓冲液含吐温 20 (PBST) 速溶颗粒/片剂

TBS-Tween Tris 盐缓冲液含吐温 20 (TBST) 速溶颗粒

NC 膜/PVDF 膜

TMB 显色试剂盒

快速转膜缓冲液

Tris-Gly-SDS/Tris-Gly/Tris-MES/Tris-MOPS/Tris-HEPES 缓冲液

AnyKD 快速制胶试剂盒

预染标准蛋白 Marker

Q&A 常见问题及解决方案:

Questions 问题	Cause 可能原因	Solutions 解决方法
膜上出现棕色或黄色条带	HRP 过多	稀释 HRP-二抗至合适浓度
发光时间短		
整个膜片发光		
无信号或者信号弱	HRP 过多造成荧光很多淬灭	稀释 HRP-二抗至合适浓度
	抗体特异性不好或者失效	更换抗体
	转膜失败	优化条件再次转膜, 分子量小的蛋白质减少 转膜时间, 并使用 0.22 μ M 的膜, 分子量的蛋白质应当提高转膜时间
	目的蛋白质太少	增加样品上样量
背景太高	HRP 过多	稀释 HRP-二抗至合适浓度
	封闭不彻底	更换封闭液, 增加封闭时间
	洗膜不彻底	增加洗膜次数, 时间, 加大洗涤液的用量
	抗原太多	减少 SDS-PAGE 上样量
	一抗使用量太多	稀释一抗使用量至合适浓度
	一抗特异性太低	更换抗体
条带有斑点	转膜不彻底	优化条件再次转膜
	PVDF 膜未充分湿润	PVDF 膜首先用甲醇充分湿润后在水化处理
	膜和保鲜膜之间有气泡	曝光时赶除气泡
胶片上有斑点	二抗聚集或有沉淀	稀释后的二抗工作液用滤膜过滤处理
非特异性条带	HRP 过多	稀释 HRP-二抗至合适浓度
	抗体特异性不好	更换一抗
	SDS 导致非特异性结合	规范转膜操作