

超灵敏型 ECL 发光液

Ultra-sensitive ECL Reagent

产品信息

产品名称	编号	规格
超灵敏型 ECL 发光液	DY30208	100ml(50ml+50ml)

产品描述

ECL Reagent 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标记有辣根过氧化物酶(HRP)的蛋白，可检测 pg 级的抗原。Luminol 在酶的催化作用下发生氧化降解，在增强剂的作用下发射波长为 428nm 的极强的光信号，持续时间长、稳定性高、检测方便。其原理是，蛋白质或核酸电泳分离后转印到膜上，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，在室温下孵育膜 1 分钟，将印记膜用保鲜膜包被粘贴固定于 X 光片曝光暗盒中，然后暗室中将 X 光胶片压在膜上曝光数秒至数分钟。显影定影后蛋白质或核酸条带可清晰显示在 X 光胶片上。也可不进行 X 光胶片曝光，而直接对印记膜进行化学发光检测。光信号支持重复曝光，也可洗膜脱抗体后供再次检测。

此产品灵敏度比其它普通化学发光产品更高，抗体须比其他底物检测时使用浓度更低。例如：如果你使用高灵敏 ECL 底物时将抗体按 1:100 稀释，那么使用超灵敏 ECL 时抗体应该按 1:500 稀释。

保存方式

2-8°C 避光保存，可稳定保存一年。

操作步骤

1. 按常规方法完成 SDS-PAGE 和电转膜操作，将转印好的膜从转膜装置上卸下来，并用 5% 脱脂牛奶封闭膜上的非特异结合位点，室温下摇晃封闭 1 小时。
2. 弃封闭液，加入一抗工作液，2-8°C 静置孵育过夜。
3. 用 TBST 漂洗膜 2 次，然后用充分体积的 TBST 洗膜 3-6 次，每次 5 分钟。
4. 用标记 HRP 的二抗工作液室温下孵育 1 小时。
5. 重复步骤 3，彻底洗掉没有结合的二抗。
6. 将试剂 A 和试剂 B 按 1:1 的比例混合成 ECL 工作液，根据每平方厘米膜使用 0.1-0.2mL 的量配制工作液，用 ECL 工作液充分覆盖膜后室温孵育 1 分钟。

注：ECL 工作液需现配现用，室温下放置不能超过 1 小时。

7. 用平头镊钳住膜，垂直置于吸水纸上吸去过量试剂，然后尽快显影。避免膜干燥。

注意事项

1. 本试剂每个批号均独立优化，请不要混用或稀释本试剂以免降低敏感性。
2. ECL 工作液配制过程中吸取试剂 A 和试剂 B 时务必更换枪头，工作液新鲜配制后立即使用，放置过久会影响灵敏度。
3. 根据不同的实验选择合适的封闭剂，如避免使用脱脂奶粉去检测抗生素/生物素系统，因为牛奶中含有许多内源性

物素，会导致背景过高。

4. 使用足够体积的洗涤缓冲液、封闭液、抗体稀释液及 ECL 底物反应液，使液体能充分覆盖膜表面，避免膜变干。使用大量洗涤缓冲液和封闭液并不会导致没有信号。在各孵育和洗涤的过程中，建议使用水平托盘摇床。
5. 避免使用含有叠氮钠的缓冲液，叠氮钠会抑制 HRP 反应，干扰实验结果。
6. 请勿空手拿膜，务必全程戴手套并使用清洁的平口镊子夹膜。
7. 操作过程中请勿使用生锈的金属盒(如剪刀、镊子等)，以免造成严重的背景。
8. 根据蛋白丰度不同曝光时间不同，约数秒至数小时。
9. 曝光时间过长会使背景加深，曝光不足会导致条带模糊。
10. 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。

本产品仅作科研用途