**ECL化学发光底物试剂盒（超敏）**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 产品编号 | 产品名称 | 规格 |
| RC52314 | ECL化学发光底物试剂盒（超敏） | 100ml |

**产品简介：**

ECL超敏发光液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**。**

**产品组份：**

|  |  |
| --- | --- |
| 产品名称 | 规格 |
| 增强型发光液 A液 | 50ml |
| 稳定剂 B液 | 50ml |

**用途：**

用于HRP标记抗体的WesternBlot和HRP标记探针的核酸杂交。

**产品特点：**

1. 灵敏度高:可检测低皮克级的蛋白:
2. 信号持续时间长:光信号持续时间长达5小时:
3. 稳定试剂:工作液在24小时内保持稳定:
4. 成像方法:适用于X射线胶片、CCD或激光凝胶成像仪:
5. 价格经济:针对稀释的抗体浓度条件进行了优化，节省抗体:

一抗: 以1ug/mL储存液稀释1:1000至1:4000倍

二抗: 以1ug/mL储存液稀释1:2000至1:5000倍

1. 简单易用:可替代其它公司的ECL发光旺物底物，操作步骤无需进行特别优化:

**使用方法：**

1. 执行常规SDS-PAGE、转膜和WesternBlot步骤。注意用HRP标记IgG或用一抗-链亲和素-生物素-HRP夹法
2. WesternBlot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(0.125mL发光工作液/cm2膜)中，与发光工作液充分接触。室温孵育3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于反应进行，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腹膜的保鲜膜，将WesternBlot膜贴在保鲜膜上，将保鲜膜折起来完全包毫WesterB1olt膜，去除气泡和褶皱，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。用胶带将膜覆盖WesternBlot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，分崩曝光不同的时间，如数秒到数分钟。显影冲洗。建议第一次曝光60秒，之后可调节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5-30min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。

**注意事项：**

1步骤1~5可在日光灯下操作:但发光液曝光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。

1. 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。
2. 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。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。

1. 由于超敏发光液极其灵敏，建议按照推荐比例稀释抗体。抗体浓度过高将造成高背景或没有条带，导致失败。
2. 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。
3. 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。
4. 叠氮钠是HRP的抑制物，不要使用叠氮钠作为缓冲液的防腐剂。

**保存条件：**

室温运输，4℃密封避光保存一年以上，短期可放置室温。