



ECL Plus 化学发光底物 说明书

产品编号: DIB049-100ml DIB049-500ml

产品规格: 100ml 500ml

保存: 室温运输, 收到后在4℃避光下储存试剂

一. 产品描述:

Super ECL Plus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。由于采用了独特的发光底物系统, Super ECL Plus超敏发光液是目前最灵敏的商业化荧光ECL检测试剂:

- (1) 可使用更高的抗体稀释倍数(1:2000~1:10000), 极其节省抗体。
- (2) 简单易用—可替代其它公司的ECL发光底物, 操作步骤无需进行特别优化
- (3) 灵敏度更高—可检测低皮克级的蛋白
- (4) 信号持续时间更长—光信号持续时间长达5小时
- (5) 更多成像方法—适用于X射线胶片、CCD或激光成像仪
- (6) 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

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0.05~1ug/ml
- 2) 将二抗浓度稀释到0.005~0.04ug/mL
- 3) 将两种底物组份按1:1比例混合, 制备底物工作液。

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底物工作液中孵育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(0.125mL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: 4 oC密封避光保存一年以上。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1-10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。
- (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1:1000~1:4000, 二抗1:2000~1:5000。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) NaN₃能抑制HRP活性, 回收第二抗体应避免使用NaN₃, 如必需使用勿超过0.01%。