

ECL Plus 超敏发光液使用说明书

货号：PE0010

规格：25ml/100ml

保存：4℃密封避光保存有效期一年以上。25℃室温放置数月不影响质量。

产品简介：

ECL Plus 超敏发光液直接或间接检测与辣根过氧化物酶 HRP 关联的蛋白或核酸底物。这一独特的发光底物系统是目前最灵敏的商业化荧光 ECL 检测试剂，具有极高灵敏度和高信噪比，可检测出 10-100 fg 的微量抗原；发光迅速，荧光可使 X 感光胶片感光达 12 小时以上，特别适用于痕量蛋白或核酸检测。同时该试剂允许使用更高的抗体稀释倍数（1：2000-1：10000），极其节省抗体。

用途：用于 HRP 标记抗体的 Western Blot 和 HRP 标记探针的核酸杂交。

安全性：无特殊毒性，按普通化学品处理。

使用方法：

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 夹心法。核酸杂交膜用 HRP 标记探针杂交，洗膜。

2、在洗涤膜上的 HRP 标记二抗的同时，新鲜配制发光工作液：分别取等体积的溶液 A 和 B 混合，放置使之恢复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减低。

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充分接触（约 0.125ml 发光工作液/cm² 膜）。室温孵育 3 分钟后立即压片曝光。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匀和灵敏度明显降低。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、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 感光胶片，分别曝光不同的时间如数秒到数分钟。显影冲洗。

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。戴手套可以避免在膜上留下手印，保持膜的洁净。

2、长时间曝光或蛋白质过量，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，肉眼虽不可见但能使 X 胶片曝光。不能单凭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 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、由于超敏发光液的高灵敏度，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帮助确定胶片上条带的准确位置和大小。

7、NaN₃ 能抑制 HRP 活性，回收二抗时应避免使用 NaN₃，如必需使用勿超过 0.01%。

相关产品：

P1020 1×PBS , PH7.2-7.4 , 0.01M

P1010 4×蛋白上样缓冲液 (含巯基还原剂)

P1300 SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒

PR1700 预染次高分子量蛋白 MARKER

T1070 5×Tris- 甘氨酸电泳缓冲液

D1060 10×电泳转移缓冲液

SW3010 膜封闭液

SW3020 膜再生液