

ECL 化学发光底物

产品编号	产品名称	规格
BL520A	ECL 化学发光底物	100 ml

产品简介：

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

产品组份：

产品编号	产品名称	规格
BL520A-1	ECL 化学发光底物 A 液	50 ml
BL520A-2	ECL 化学发光底物 B 液	50ml

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

产品特点：

- 1、具有极高灵敏度和高信噪比，可检测 10~100 fg 抗原；
- 2、可在日光灯下进行发光操作；
- 3、发光迅速，荧光可使 X 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；
- 4、可使用更高的抗体稀释倍数(1:2000~1:10000)，极其节省抗体。

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。

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。

安全性: 无特殊毒性,按普通化学品处理。

注意事项:

1、步骤 1~5 可在日光灯下操作;但发光液曝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%。

保存条件:

4 °C 密封避光保存一年以上,短期可放置室温。