

# Super ECL Detection Reagent

## ECL 化学发光超敏显色试剂盒

### 产品简介

ECL 化学发光超敏显色试剂盒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。其原理是, 蛋白质或核酸在电泳后转移到印迹膜上, 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, 室温孵育膜数分钟, 将印迹膜用保鲜膜包被粘贴固定于 X 光片曝光暗盒。然后转入暗室将 X 光胶片压在膜上曝光数秒到数小时, 显影定影后蛋白质或核酸条带可清晰显示在 X 光胶片上。

本试剂盒采用了独特的发光底物系统, ECL 化学发光超敏显色试剂盒是目前最灵敏的商业化荧光 ECL 检测试剂。

### 产品特点

1. 具有极高灵敏度和高信噪比, 可检测低皮克级抗原;
2. 发光迅速, 亮度强, 可在日光灯下观察到印迹膜条带;
3. 持续发光时间长, 荧光可使 X 光胶片感光达 5 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), 大大节省抗体。

### 产品信息

组分编号	组分名称	36208ES60 (100 mL)	36208ES76 (500 mL)
36208-A	A 液	50 mL	250 mL
36208-B	B 液	50 mL	250 mL

### 储存条件

2~8°C 避光保存。有效期 1 年。

### 使用说明

1. 执行常规电泳、转膜、HRP 标记抗体或者 HRP 标记核酸探针孵育、洗膜。  
【注】: ECL 发光液是 HRP 的显色底物, 因此检测系统最终必须基于 HRP 酶标记抗体或者核酸探针。
2. 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 A 液和 B 液, 混匀后, 室温放置备用。  
【注】: 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. 用平头镊取出膜, 搭在滤纸上沥干洗液, 勿使膜完全干燥。将膜完全浸入发光工作液 (125 $\mu$ L 发光工作液/cm<sup>2</sup>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。  
【注】: 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, 但勿降低发光液使用比例。
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 光胶片暗盒内表面铺一张面积大于膜的保鲜膜。将印迹膜贴在保鲜膜上, 将保鲜膜折起来完全包裹印迹膜, 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。用胶带将覆盖印迹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。

## 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，保持膜的干净。
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，因此弱带可曝光 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. 叠氮化钠 ( $\text{NaN}_3$ ) 能抑制 HRP 活性，若回收 HRP 标记探针或者抗体应避免使用  $\text{NaN}_3$ ，如必需使用勿超过 0.01%。
8. 本品无特殊毒性，按普通化学品处理。
9. 本产品仅作科研用途！
10. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。