

ECL 发光液 (超敏增强型)

产品编号	产品名称	包装
E1060	ECL 超敏发光液	50ml*2

保存条件: 4°C避光保存, 一年有效。如果长期不用, 可以-20°C保存。-20°C可以保存更长时间。

产品简介

用于 HRP 标记抗体的 Western Blot 和 HRP 标记探针的核酸杂交。具有以下特点:

- (1) 具有极高灵敏度和高信噪比,可检测至**低皮克 (pg)** 水平;
- (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,淬灭时间长;
- (4) 可使用更高的抗体稀释倍数(1:2000~1:10000),极其节省抗体;
- (5) 保存时间长;

使用说明:

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。

- 1、在最后一次洗涤膜上的 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。
- 2、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, 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。
- 3、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。
- 4、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。
- 5、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:

30%丙烯酰胺/甲叉 29:1	货号 A3291
10XTris-甘氨酸-SDS 电泳缓冲液	货号 T7777
4 X SDS 蛋白上样缓冲液	货号 G2526
4 X SDS 浓缩胶缓冲液	货号 S4680
4 X SDS 分离胶缓冲液	货号 S4880
1.5M Tris-HCl(pH8.8)	货号 T1088
1M TrisT-HCl (pH6.8)	货号 T1068
考马斯亮蓝染色套装	货号 G1041
10×电转缓冲液	货号 T3011
10×TBST 缓冲液(封闭-洗涤)	货号 T9039
10×TBS	货号 T9038
5%BSA 封闭液	货号 B0510
5%BSA 封闭液	货号 B0510
ECL 发光液	货号 E1050
GAPDH Mouse mAb	货号 G0100
α-Actin Mouse mAb	货号 A0100
β-Actin Mouse mAb	货号 A0101
β-Tubulin Mouse mAb	货号 T0100
羊抗小鼠 IgG-HRP	货号 S0100
羊抗兔 IgG-HRP	货号 S0101

