

ECL 化学发光底物 (超敏)

产品编号	产品名称	规格
DA8711	ECL 化学发光底物 (超敏)	100 ml

产品简介:

ECL 化学发光底物 (超敏) 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。该 ECL 底物能够兼容各种膜、封闭液和宽范围抗体稀释液，以出色性能、通用性和高性价比，满足用户的免疫印迹应用需求。

产品组份:

产品编号	产品名称
DA8711-1	增强型发光液 A 液
DA8711-2	稳定剂 B 液

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、灵敏度高：可检测低皮克级的蛋白；
- 2、信号持续时间长：光信号持续时间长达 5 小时；
- 3、稳定试剂：工作液在 24 小时内保持稳定；
- 4、成像方法：适用于 X 射线胶片、CCD 或激光凝胶成像仪；
- 5、价格经济：针对稀释的抗体浓度条件进行了优化，节省抗体：一抗：以 1 mg/mL 储存液稀释 1:1,000 至 1:4,000 倍
二抗：以 1 mg/mL 储存液稀释 1:2,000 至 1:5,000 倍
- 6、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；

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配制发光工作液：分别取等体积的 A 液和 B 液，放入干净容器中混合（注意吸取 A 液和 B 液的吸头一定要分开，避免试剂污染）。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、**Western Blot** 最后一次洗膜后，用镊子将膜取出，用滤纸吸去多余的洗涤液（切勿接触膜的蛋白面），然后置于一洁净保鲜膜上或塑料容器内。

4、根据膜的大小，按比例滴加配置好的 ECL 工作液到膜上，确保工作液均匀覆盖在膜上，放置 1-3 分钟。

5、取膜，用滤纸吸去多余的液体，将膜放在两片保鲜膜中间，随后进行压片检测或化学发光成像仪检测。

6、压片检测：将膜固定于 X 光胶片暗盒内（注意蛋白面向上）。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。

7、化学发光成像仪检测：将膜放置到化学发光成像仪内，参考仪器说明书进行检测。

注：建议第一次曝光 60 秒，之后可调整曝光时间以达到最佳结果。化学发光反应在底物孵育后的前 5-30 min 期间是最强烈的。这一反应可以持续几个小时，但强度会随时间下降，如有底物孵育后较长时间后曝光，曝光时间可能需要延长以获得较强信号。

注意事项：

为获得最佳效果，需优化该系统，包括样品量、一抗和二抗浓度、膜和封闭试剂的类型。

1、没有一种封闭试剂对所有系统而言都是最佳的，所以为每一个免疫印迹检测系统找到

最合适的封闭缓冲液非常必需。

2、使用亲和素/生物素检测系统时，避免使用牛奶作为封闭试剂，牛奶中含有的不定量内源性生物素会导致高背景信号。

3、实验中避免印迹膜变干。

4、叠氮钠是 HRP 的抑制物，不要使用叠氮钠作为缓冲液的防腐剂。

5、避免手与膜直接接触，实验过程应戴手套或使用干净的镊子。

6、短时间暴露于实验室常规照明不会损害该工作液，但应避免长期暴露在强光下。

保存条件：

室温运输，4℃密封避光保存一年，短期可放置室温。

问题解答:

问题	可能问题	解决方案
胶片上有反转像	系统中 HRP 过多	将 HRP 标记二抗稀释至少 10 倍
膜上有褐色或黄色带		
印迹在暗室中发光		
信号持续时间少于 8h		
信号弱或无信号	系统中过多的 HRP 耗尽了底物 并导致信号迅速衰减	将 HRP 标记二抗稀释至少 10 倍
	抗原或抗体的量不足	增加抗体或抗原的量
	蛋白质转移率低	优化转印
	HRP 或底物活性低	见下文注释
高背景	系统中 HRP 过多	将 HRP 标记二抗稀释至少 10 倍
	封闭不充分	优化封闭条件
	封闭式机不合适	尝试一种不同的封闭试剂
	洗涤不充分	增加洗涤时间、次数或洗涤缓冲液体积
	胶片过度曝光	缩短曝光时间或使用背景消除剂
	抗原或抗体的浓度太高	减少抗体或抗原的量
蛋白质条内有斑点	蛋白质转膜效率低	优化转印流程
	膜的水化不均匀	按照制造商建议适度的使膜水化
	胶片与膜之间存在气泡	在胶片曝光前，去除气泡
胶片上背景有斑点	HRP 标记二抗中存在聚集物	使用 0.2um 的过滤器
非特异性条带	系统中 HRP 过多	将 HRP 标记二抗稀释至少 10 倍
	SDS 导致的蛋白非特异性结合	在检测过程中不使用 SDS

*为检测系统活性，暗室中，在一个清洁试管中制备 1-2ml 工作液。关闭灯，添加 1ul 未稀释的 HRP 标记二抗工作液。该溶液应当立即发出蓝色光，蓝光信号在随后的几分钟渐淡。