



ECL发光试剂盒系列说明书

货号：WGD-X-3100097-99

产品介绍

ECL 发光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、抗原或者核酸。蛋白质或核酸在电泳后转移到印迹膜上，以 HRP 标记的抗体或探针结合膜上的目的蛋白或核酸，洗膜后置于用本产品配制的 ECL 工作液中，室温孵育数分钟。HRP 使工作液中的鲁米诺（Luminol）氧化并发光，试剂中添加的增强剂可以使得这种发光大幅度增强。此光经 X 光胶片或电子装置感光，可清晰显示蛋白质或核酸条带。本公司生产的 ECL 发光试剂盒目前共有三种，分别是增强型，超敏型和极敏型。对于高丰度目的蛋白和常规的蛋白检测，优先推荐使用增强型。低丰度较难检测的目的蛋白，优先推荐使用高灵敏度的超敏型和极敏型，极敏型发光能力较超敏型进一步提升至 2 倍。

产品目录

产品名称	规格
增强型 ECL 发光试剂盒	100 mL
	500 mL
超敏型 ECL 发光试剂盒	100 mL
	500 mL
极敏型 ECL 发光试剂盒	100 mL
	500 mL

产品组成

组分	ECL 工作液 A	ECL 工作液 B
增强型 ECL 发光试剂盒 100 mL	50 mL	50 mL
增强型 ECL 发光试剂盒 500 mL	250 mL	250 mL
超敏型 ECL 发光试剂盒 100 mL	50 mL	50 mL
超敏型 ECL 发光试剂盒 500 mL	250 mL	250 mL
极敏型 ECL 发光试剂盒 100 mL	50 mL	50 mL
极敏型 ECL 发光试剂盒 500 mL	250 mL	250 mL

产品用途

用于免疫印迹或 ELISA 实验检测蛋白质。

产品特点

- 1. 发光性能强：发光性能为其它品牌的 2~4 倍。
- 2. 灵敏度高：检测下限可达低飞克级。
- 3. 稳定性高：37℃保存 30 天，和 4℃保存的试剂相比检测性能无明显下降。

注意事项

- 1. 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. 取用 ECL 工作液 A 和 ECL 工作液 B 一定要使用不同的枪头，否则试剂会缓慢失效。



3. 孵育时间过长不仅会增加灵敏度，还可能导致曝光条带异常。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灵敏度明显降低。为达到节约目的可将膜裁小，但勿降低发光液使用比例。
4. 叠氮化钠（ NaN_3 ）能抑制 HRP 活性，应避免使用 NaN_3 ，如必须使用，浓度不要超过 0.01%。

■ 使用方法

1. 执行常规电泳、转膜、封闭、HRP 标记抗体或者 HRP 标记核酸探针孵育、洗膜；
2. 最后一次洗膜的同时，配制新鲜的工作液：分别取等体积的 ECL 工作液 A 和 ECL 工作液 B 混匀后，室温放置备用；
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（100~200 μL 发光工作液/ cm^2 膜）中，与发光工作液充分接触。室温孵育 3~5 min，准备立即曝光；
4. 用平头镊子夹起膜，用吸水纸接触下边缘去除膜上多余液体，留下少量工作液，不可让膜完全干燥、不可洗去发光液；随后进行压片检测或是荧光成像仪检测。
5. 压片检测：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，务必确保蛋白面向上。暗室内取一张 X 光胶片置于包裹的膜上，压片，分别曝光不同的时间，如数秒到数分钟，随后进行显影、定影。
- 注意：曝光时间需根据曝光强度做相应的调整。若是背景过高，可使用两张 X 光胶片同时压片。
6. 荧光成像仪检测：膜直接用于拍照。拍照按仪器使用说明进行。

■ 储存和运输条件

2~8℃保存，有效期 24 个月；2~8℃运输。

■ 常见问题及解决方法

问题	可能原因	解决方案
胶片上有反转像 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 6 h	体系中 HRP 过多	将 HRP 标记二抗稀释至少 10 倍
信号弱或无信号	体系中过多的 HRP 耗尽底物，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	优化转膜过程
	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
	封闭剂不合适	采用新的封闭剂
	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
	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	蛋白质转移率低	优化转膜过程
	膜水化不均匀	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 0.2 μm 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 1~2 mL 工作液。关闭灯，添加 1 μ L 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。