



极敏型ECL发光试剂盒说明书

货号：WGD-X-3100099

产品介绍

ECL 发光试剂盒用于检测辣根过氧化物酶（HRP）直接或间接标记的抗体、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四种，分别是稳定型、增强型、超敏型和极敏型。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了 2 倍。

产品目录

产品名称	规格
极敏型 ECL 发光试剂盒	100 mL
	500 mL

产品组成

组分	100 mL	500 mL
极敏型 ECL 工作液 A	50 mL	250 mL
极敏型 ECL 工作液 B	50 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：检测下限可达超低飞克级；
- 3. 稳定性高：在 37℃保存 30 天后，与 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. 取用极敏型 ECL 工作液 A 和极敏型 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（NaN₃）能抑制 HRP 活性，应避免使用 NaN₃，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：分别取等体积的极敏型 ECL 工作液 A 和极敏型 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/cm² 膜）中，与发光工作液充分接触。室温孵育 3~5 min，准备立即压片曝光；
- 4. 用平头镊子夹起膜，膜的下缘轻轻接触吸水纸，去除膜上多余的液体，留下少量工作液，不可让膜完全干燥。不可洗去发光液；



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，务必确保蛋白面向上；
6. 暗室内取一张 X 光胶片至于包裹的膜上，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。**

■ 储存和运输条件

储存条件：2~8℃保存，保质期为 24 个月；运输条件：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	体系中 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 6 h		
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。关灯，添加 1 μL 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。