

高敏型ECL化学发光检测试剂盒 (即用型)

E412

Version 21.1



产品概述

本试剂盒以化学发光方法检测蛋白质或核酸类生物大分子。蛋白质或核酸类生物大分子在电泳后转移到印迹膜上，分别用一抗和辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的二抗顺序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目的核酸。洗膜后用新鲜配制的ECL工作液，在室温下避光孵育膜2 - 3 min，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时长可为数秒到数小时。显影定影后蛋白质或核酸条带可清晰显示在X光胶片上，也可不进行X光胶片曝光显影步骤,直接对印迹膜进行CCD扫描。

本试剂盒采用了独特的发光底物系统，有效降低曝光背景、提高检测灵敏度，并在检测持久性和信噪比方面与本公司的ECL增强型发光试剂盒(Vazyme #E411)相比有显著改善。

产品组分

组 分	E412-01 (2 × 50 ml)	E412-02 (2 × 250 ml)
ECL Substrate A	50 ml	250 ml
Peroxide Solution B	50 ml	250 ml

保存条件

2 ~ 8°C避光保存。如果长期不用，可-30 ~ -15°C避光保存。可在2 ~ 8°C或室温运输。

适用范围

本试剂盒适用于Western Blot、EMSA等基于HRP标记的抗体或核酸探针的蛋白和核酸印迹检测。

注意事项

1. ECL工作液配制过程中吸取ECL Substrate A液和Peroxide Solution B液时务必更换吸头，工作液新鲜配制后应立即使用，室温放置数小时后可使用但灵敏度略有降低。
2. Peroxide Solution B液含有氧化剂，易被还原而失效。各溶液使用后，请盖紧瓶盖，以防失效。
3. 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。
4. 尽量避免将多张膜置于同一个洗膜盒内洗膜，相互吸附或摩擦可能造成背景增加。
5. 应使用高质量保鲜膜。质量较差的保鲜膜可能会淬灭荧光或由于含有杂质而污染印迹膜造成曝光背景值偏高。
6. 根据目的蛋白丰度不同，曝光时间可能是数秒至数小时。曝光时间不足会导致目的条带不明确，曝光时间过长会使背景加深。
7. 叠氮化钠(NaN₃)能抑制HRP活性，若回收HRP标记探针或者抗体应避免使用NaN₃，如必需使用勿超过0.01%。
8. 由于发光液极其灵敏，推荐大多数进口抗体起始浓度为一抗1:1,000 - 1:4,000，二抗1:2,000 - 1:5,000。抗体浓度过高可能造成高背景或没有条带。
9. ECL Substrate A液和Peroxide Solution B液均对人体有害，操作时请小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

实验流程

1. 使用合适的方法进行Western Blot实验，直至用PBST或TBS/TBST洗涤二抗。
2. 新鲜配制ECL工作液：ECL Substrate A液和Peroxide Solution B液按1:1混合后即为ECL工作液。工作液混合后请尽快使用，室温放置数小时后仍可使用但灵敏度略有降低。
3. 用平头镊取出印迹膜，搭在滤纸上沥干洗膜液但勿使膜完全干燥。用ECL工作液均匀滴加至印迹膜上，确保完全均匀覆盖，室温孵育2 - 3 min。ECL工作液使用量大约为0.125 ml/cm²膜或根据个人实验习惯使用。
4. 用平头镊夹住印迹膜，弃发光工作液，用吸水纸略吸去多余工作液。
5. 快速将印迹膜置于二层保鲜膜之间，尽量赶尽气泡。
6. 将印迹膜蛋白面朝上，放于X光胶片暗盒内，用透明胶带粘贴边缘固定。
7. 在暗室内放入X光片，根据显色情况曝光适当时间，显影定影。
8. 根据信号的强弱适当调整曝光及显影时间，也可选择不同时间多次曝光，以达更佳效果。

*所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。