

超敏 ECL 发光底物检测试剂盒

2020.04.15R

货号: PMK0448

保存: 4℃密封避光保存一年以上，短期可放置室温。如果长期不用，-20℃避光保存可以保存更长时间。

规格: 50ml+50ml/250ml+250ml

用途: 用于 HRP 标记抗体的 Western Blot 和 HRP 标记探针的核酸杂交。

产品简介:

普美克生产的超敏 ECL 发光底物检测试剂盒用于检测直接或间接标记辣根过氧化物酶 (HRP) 的抗体及其关联的抗原。其原理是，蛋白质或核酸在电泳后转移到印迹膜上，以一抗及 HRP 标记的二抗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核酸。洗膜后用本产品配制的 ECL 工作液，室温孵育膜数分钟，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。

本产品采用独特的发光底物系统，降低曝光背景的同时引入新型的氧化剂，大大提高试剂盒的稳定性，使其在室温能稳定放置一年。本产品配制的 ECL 工作液衰减较慢，15min 内荧光几无减弱，检测时产生的非特异背景非常低，也可节省抗体和待测样品的用量，该试剂可用于 PVDF 膜和 NC 膜(硝酸纤维素膜)的 Western blot 免疫印迹等印迹发光显色。除用于 X 光胶片，还可直接使用荧光 CCD 扫描。

产品内容:

货号	PMK0448-100	PMK0448-500
ECL A	50ml	250ml
ECL B	50ml	250ml

使用步骤:

1. 执行常规电泳、转膜、HRP 标记抗体或者 HRP 标记核酸探针孵育、洗膜。ECL 发光底物是 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. 最后一次洗膜的同时，新鲜配制发光工作液：分别取等体积的 A 液和 B 液 1: 1 混合，混匀后室温放置备用。取 A 液和 B 液一定要用不同的枪头，另建议工作液现配现用，室温放置数小时后仍可使用但灵敏度略有降低。(100~200 μ l 发光工作液/cm² 膜)
3. 用平头镊取出膜，膜的下缘轻触在滤纸上除去多余洗液（勿使膜完全干燥）。将膜完全浸入发光工作液中，与发光工作液充分接触。室温孵育 1-3 分钟，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反应进行，也会导致膜上条带曝光不均和明显降低灵敏度。为达节约目的可将膜剪小，但勿降低发光液使用比例。
4. 用平头镊子夹起膜，膜的下缘轻轻接触吸水纸，去除膜上多余液体，留少量工作液，不可让膜完全干燥。
5. 将膜迅速放在两片洁净的保鲜膜中间，去除气泡和皱褶，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，蛋白带面向上。

产品说明书

6. 暗房内取一张 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，显影定影冲洗。曝光时间需根据曝光强度做相应调整。若是背景过高，可使用两张 X 光胶片同时压片。亦可采用荧光成像仪检测，将膜放置到荧光成像仪内，按仪器说明书进行检测。

注意事项：

1. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
2. 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，保持膜的干净。
3. 长时间曝光或蛋白过量，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。
4. 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甚至肉眼不可见但可使 X 光胶片曝光。不能简单以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 光胶片感光，因此弱带可曝光 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。
5. 发光工作液的荧光持续时间很长，但在开始反应后的 20min 内荧光更强一些，随后荧光逐渐减弱，因此请注意充分利用这荧光较强的 20min 进行曝光或成像仪检测。
6. 由于发光液灵敏度高，抗体浓度过高将造成高背景或没有条带，导致失败，所以要适度优化抗体浓度。若检测检测灵敏度仍不足以满足实验需要时，请选择灵敏度更高的超敏 ECL 发光底物检测试剂盒(PMK003)。
7. 某些保鲜膜包裹印迹膜时可能会淬灭荧光，应选择高质量保鲜膜。
8. 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很深的背景。
9. 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精确确定胶片上条带的位置和大小。
10. 使用生物素-亲和素系统，避免使用牛奶封闭，可能会导致背景过高。
11. 金属氧化物颗粒可能会造成膜上出现颗粒状斑点，避免使用带有锈迹的剪刀以及镊子，建议使用塑料的平头镊子。
12. 各溶液使用后，请盖紧瓶盖以防止失效，特别是 B 液含有氧化剂，比较容易被还原而失效。
13. 叠氮化钠 (NaN₃) 能抑制 HRP 活性，洗涤液、封闭液和抗体稀释液中应避免使用 NaN₃，如必需使用勿超过 0.01%。
14. 本产品 A 液和 B 液均对人体有害，操作时请小心，并注意有效防护避免直接接触人体或吸入体内。本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。

相关产品：

PMK1300 考马斯亮蓝蛋白胶快速染色液

PMK0019 30%丙烯酰胺(29:1)

PMK0011 红细胞裂解液

PMK1012 SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒

PMK053 GAPDH mAb-HRP conjugated

PMK002 抗体稀释液

更多产品详情了解，请关注公众号：

