



超敏 ECL 化学发光底物检测试剂盒

● 产品说明

3-氨基邻苯二甲酰肼是一种较强的化学发光物质，在辣根过氧化物酶（HRP）催化的条件下，可以被氧分子氧化成具有发光现象的中间体，当中间体从激发态返回到基态时发出光子，光子信号可通过 X 射线胶片或其它化学发光成像设备被捕获。常用于检测固定在膜上的蛋白质等生物大分子。具有极高灵敏度和高信噪比，所以该试剂允许更高的抗体稀释倍数，可以达到节约抗体的效果。

名称	内容	规格	货号
超敏 ECL 化学发光底物 检测试剂盒	A 液 25 mL+ B 液 25 mL	2×25 ml	KTSM125
	A 液 50 mL+ B 液 50 mL	2×50 ml	KTSM126
	A 液 100 mL+ B 液 100 mL	2×100 ml	KTSM127

保存条件:

避光 2-8℃保存，一年有效。

● 使用说明

一、电泳、转印膜

1. 常规电泳、转膜、HRP 标记抗体或核酸探针孵育、洗膜。
2. 洗涤膜上的 HRP 标记二抗。注意：膜与 HRP 标记二抗孵育后必须进行彻底洗涤。

二、曝光

1. 新鲜配制发光工作液：等体积混合适量 A 液 和 B 液，放置使之恢复到室温，否则会减弱荧光强度。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。
2. 用镊子取出膜，用干净的滤纸吸去过多的液体，但勿使膜完全干燥。蛋白带面向上，置于化学发光检测仪内，将 ECL 工作液滴加到膜上，以液体均匀覆盖膜为宜，室温放置 1-2 分钟。
3. 化学发光成像仪检测：参照仪器说明书进行检测。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用量。



● 注意事项

- 1、为获得最佳实验结果，请务必优化实验条件，包括检测样品的用量、一抗、二抗稀释度以及杂交膜及封闭试剂的选择；
- 2、由于牛奶中含有内源性生物素，在使用亲和素/生物素系统时，封闭液中请避免使用奶粉，可选用 5% 的 BSA 封闭；
- 3、由于叠氮钠是 HRP 抑制剂，在缓冲液中避免使用叠氮钠作为防腐剂；
- 4、整个免疫印迹实验过程应确保印迹膜始终处于湿润状态，避免干燥；
- 5、在膜操作过程中请带手套操作或者使用干净的镊子移动转印后的膜，避免蛋白污染；
- 6、实验过程中，请使用干净的器材。保证非金属设备没有明显划痕，金属设备表面无锈。锈可能导致膜上带有污点或者高背景；
- 7、避光条件下，配制好的化学发光检测底物工作液可在室温下稳定 8 小时。如暴露于阳光或其他强光下，工作液会受影响。为获得最佳效果，可于棕色瓶中配制工作液，避免强光长时间的照射。正常实验室灯光短时间照射不影响工作液的使用；
- 8、蛋白过量或长时间曝光，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；
- 9、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用化学发光成像系统扫描或 X 光胶片曝光。不能简单以肉眼观察判断条带发光时间。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。

温馨提示：

为了您的自身安全，使用试剂前，请做好防护，如穿实验服，带手套等。本产品仅限于专业人员的科学研究使用，不得用于临床诊断或治疗，不得存放于普通住宅内。