**极敏型 ECL化学发光底物试剂盒**

**试剂盒组成：**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 货号 | 组份 | 数量 |
| ECL-F-100 | A 液 | 50mL |
| B 液 | 50mL |
| 说明书 | 1 份 |
| ECL-F-500 | A 液 | 250mL |
| B 液 | 250mL |
| 说明书 | 1 份 |

**储存：建议置于4 ºC避光保存，一年稳定。**

一、**产品简介**：

本试剂盒是非放射性发光系统，用于检测固定在膜上的蛋白或核酸，灵敏度高，背景低，最低检测灵敏度可达低飞克(femtogram)级乃至飞克级以下，适用于检测极痕量蛋白或核酸。发光信号持续时间较长，半小时以后仍可维持75%的发光，便于反复曝光操作。与其他 ECL 化学发光底物相比，可显著减少样本及一抗和二抗的使用量。

**二、原理：**

极敏型ECL化学发光底物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，试剂中添加的增强配方可以使这种发光得到极大增强，从而能够检测更低表达量的蛋白质或核酸。此光经X光胶片或者电子装置感光记录下来，可清晰显示蛋白质或核酸条带。

**三、产品优点：**

低飞克级灵敏度——极高的灵敏度，能快速检测更广泛的蛋白范围，最低可检测飞克( femtogram )级以下的蛋白。

信号稳定——发光时间较长，能进行多次曝光，半小时以后仍可维持75%的发光。

信号强——发光信号比对碘苯酚增强的 HRP-鲁米诺检测体系得到极大增强。

稳定性较高——试剂盒可在4度稳定存放一年。

节约抗体——需要更少（稀释更多）的一抗和二抗，特别节省抗体(推荐用量：一抗0.01-0.2μg/mL，二抗2-10ng/mL)。

**四、使用方法：**

1. 印迹膜制备：执行常规电泳、转膜、HRP标记的抗体或者HRP标记的核酸探针孵育、洗膜；ECL工作液含有HRP催化的发光底物，检测系统必须基于HRP酶标记的抗体或者核酸探针。充分的洗涤对于降低背景非常重要，所有步骤均在室温下完成。

2. ECL工作液的配置：在使用前取等量A液和B液，充分混匀后尽快使用；将膜片置混合液中，于室温下孵育约2分钟，每平方厘米膜片至少使用0.1-0.2ml以覆盖全膜片，注意不要在膜片表面形成气泡。

3.蛋白或核酸信号显现：

1). 用平头镊钳住膜片，垂直置于吸水纸上以吸去过量试剂，仅留下少量液体覆盖表面，不可让膜完全干燥；

2). 将膜片置于保鲜膜上，吸附蛋白面朝上，小心赶尽气泡；

3). 用电子装置感光，或在暗室中用X光片曝光；

4). 根据信号强弱适当调整曝光时间，也可选择不同时间多次曝光，以取得最佳效果。

**五、安全性：**

无特殊毒性，按普通化学品处理。如果不慎与眼、皮肤和衣物接触，请立刻用大量清水冲洗。

**六、注意事项：**

1．由于不同品牌的抗体质量不同，以及抗体的保存条件和保存时间的不同，初次使用时建议对抗体用量进行优化，以取得最优效果。

2．勿将ECL化学发光底物试剂盒暴露在阳光或强光下，否则易导致其失活；建议保存在棕色瓶中，并避免长时间暴露在阳光下，实验室光照对试剂盒影响不大；除了X光胶片曝光和洗片处理外，所有步骤均不必在暗室中操作。

3．使用充足的洗涤缓冲液、封闭液、抗体稀释液和底物工作液去覆盖印迹膜，以确保印迹膜处于湿润状态；使用大量的封闭液和洗涤液能减少非特异性信号的产生。

4．使用前配制ECL工作液，体积足够覆盖膜片即可；取A液和B液时一定要用不同的枪头，互相污染可能导致缓慢失活；配制完毕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；弃去使用过的混合试剂。

5．印迹膜与ECL工作液孵育后约3 min时发出的荧光最强，随后荧光会随着时间的延长而缓慢减弱，至30min仍可保持约75%的光信号；蛋白点荧光较弱时可以适当延长曝光时间；使用过少的ECL工作液不利反应进行，为达节约目的可将膜剪小，但勿降低ECL工作液使用比例。

6．使用生物素/亲和素体系时，避免使用脱脂奶粉作为封闭液，因为脱脂奶粉中含有多种内源性生物素，容易产生非特异性信号。

7. 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。

8. 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。

9．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%。

10. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作；戴手套可以避免在膜上留下手印，保持膜的干净。

11.本产品仅供研究使用。