HB180824

**Enhanced ECL Chemiluminescent Substrate Kit**

**增强型ECL化学发光检测试剂盒**

**产品信息**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **产品名称** | **产品编号** | **规格** | **储存** | **价格（元）** |
| Enhanced ECL Chemiluminescent Substrate Kit  增强型ECL化学发光检测试剂盒 | 36222ES76 | 500 mL | 4℃ | 325.00 |
| 36222ES80 | 1000 mL | 4℃ | 1255.00 |

**产品描述**

增强型ECL化学发光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。

本试剂盒采用了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。除用于X光片，还可直接使用荧光CCD扫描，主要用于WB检测以及化学发光免疫检测系统。

**产品组分**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **组分编号** | **组分名称** | **产品编号/规格** | | |
| **36222ES60（100 mL）** | **36222ES76（500 mL）** | **36222ES80（1000 mL）** |
| 36222-A | A液 | 50 mL | 250 mL | 500 mL |
| 36222-B | B液 | 50 mL | 250 mL | 500 mL |

**运输与保存方法**

常温运输。

频繁使用可置于室温保存，一年稳定；长期不用，建议置于4 ºC保存延长效期。**【注】：A液（36222-A）需避光保存！**

**操作方法**（以X光胶片为例）

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。

【注】：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. 最后1次洗膜的同时，新鲜配制发光工作液（推荐100-200 μL发光液/cm2膜）：分别取等体积的A液和B液，混匀备用。

【注】：取A液和B液一定要用不同的枪头；另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。

3. 用平头镊取出膜，搭在滤纸上沥干洗液，勿使膜完全干燥。用移液器将工作液加到膜上，使之充分接触。室温孵育1-2 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。

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，蛋白带面向上。

6. 暗房内取一张X光胶片至于包裹的膜上，压片，曝光30 sec-2 min，显影定影冲洗。【注】：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。

**其他曝光方法**

如果使用CCD拍照：可以将膜放置于工作液中，开机后按照使用说明，将膜取出，进行拍照。另外，也可以根据情况，调整机器测量参数，提高信噪比。

**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）转膜、封闭、孵育都需要避免气泡，另外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）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。

5）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。

6）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。

7）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。

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，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%。

10）本品无特殊毒性，按普通化学品处理。

**问题与解决方案**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 遇到的问题 | 原因分析 | 推荐解决方法 |
| 胶片无条带显现或者信号较弱 | 转膜的效率低 | 提高转膜效率，用预染Marker判断。 |
| 抗原/抗体量少或不匹配 | 增加抗原/抗体量或选择合适抗原/抗体 |
| X光胶片有问题 | 曝光后X光谱全黑（而非透明色），则表明胶片已完全曝光，使用新的X光片 |
| 显影/定影液有问题 | 可预先曝光一张胶片进行判断，如有问题当换用新的显影/定影液 |
| 反应系统中HRP量过多 | 稀释HRP标记物 |
| X光片背景脏 | 一抗二抗浓度太高 | 降低抗体浓度，延长封闭时间 |
| 抗体未清洗干净 | 增加洗膜次数 |
| 条带有空斑 | 抗原以及二抗的浓度过高 | 稀释样品重新跑胶，也可将混合好的显色液冰浴后，加到膜上即刻快速显色。 |
| 带型不规则 | 转膜有气泡或甲醇（对于PVDF膜）水化不均匀 | 优化转膜条件。 |