

## ECL Plus 化学发光液

### 产品简介:

ECL 化学发光检测试剂是基于 Luminol 的新一代增强型化学发光底物试剂, 可与二抗上偶联的辣根过氧化物酶(Horseradish Peroxidase, HRP)催化发生化学反应而发出荧光, 结果可以通过 X 光片压片和其他显影技术展现或使用 Luminometer 检测。

Leagene ECL Plus 化学发光液采用了独特的发光底物系统, 可通过 HRP 实现低皮克级(以 HRP 浓度为基准)的免疫印迹检测, 其灵敏度, 发光时间和背景均明显优秀。特点有: ①可使用更高的抗体稀释倍数(1:2000 ~ 1:10000), 极其节省抗体; ②可替代其它公司的 ECL 发光液, 操作步骤无需进行特别优化, 简单易用; ③可检测低皮克级的蛋白, 灵敏度更高; ④光信号持续时间长达 5 小时, 信号持续时间更长; ⑤有更多的成像方法, 可适用于 X 射线胶片、CCD 或激光成像仪等; ⑥相比其他品牌的类似产品, 不仅具有高品质和高性能, 同时价格也更低。该试剂可用于 HRP 标记抗体的 Western Blot 和 HRP 标记探针的核酸杂交。本产品仅限于专业人员用于生命科学研究, 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。

### 产品组成:

名称 \ 编号	PW0111	PW0111	Storage
	50ml	100ml	
试剂(A): ECL Plus Reagent A	25ml	50ml	4°C 避光
试剂(B): ECL Plus Reagent B	25ml	50ml	4°C
使用说明书	1 份		

### 操作步骤 (仅供参考):

- 1、 配制 ECL Plus 工作液: 临检测前根据需求量, 分别取等体积的 Reagent A 和 Reagent B, 放入干净容器中混合。暴露于日光或任何其他强光可能损害 ECL Plus 工作液, 为获得最佳结果, 将此工作液保存在避光瓶中, 并避免长期暴露于任何强光。短时间暴露于实验室常规照明不会损害该工作液。建议配制后立即使用工作液, 室温放置数小时后仍可使用但灵敏度略有降低。
- 2、 Western Blot 二抗孵育数次洗涤后, 用镊子将膜轻轻取出, 用吸水纸略吸去过量的液体(勿接触膜的蛋白面), 然后置于一洁净保鲜膜或恰当容器上。根据膜的大小, 按每 0.12ml 工作液/cm<sup>2</sup> 膜的比例, 滴加 ECL Plus 工作液到膜上, 确保使工作液均匀覆盖在膜上, 室温孵育 1~3min, 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于反应进行，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。

- 3、用镊子夹起膜，用滤纸略吸去过多的液体。打开 X 光胶片暗盒，在暗盒内表面铺一张面积大于膜的保鲜膜。将 Western Blot 膜贴在保鲜膜上，将保鲜膜折起来完全包裹 Western Blot 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 Western Blot 膜的保鲜膜固定在暗盒内，蛋白带面向上。
- 4、在暗室内进行 X 光胶片曝光，立即显影定影，根据结果再调整压片时间或直接分别曝光 0.5, 1, 3, 5min，然后一起显影定影观察结果。亦可采用荧光成像仪检测：将膜放置到荧光成像仪内，参考仪器说明书进行检测。

### 注意事项：

- 1、ECL Plus Reagent A 和 ECL Plus Reagent B 在吸取过程中必须要更换枪头，上述试剂相互污染后会导致两种试剂逐渐失效，影响后续的使用效果。
- 2、步骤 1~3 可在日光灯下操作；但发光液曝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。
- 3、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，因而弱带可曝光 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。
- 4、由于超敏发光液极其灵敏，强烈推荐大多数进口抗体起始浓度为一抗 1:1000 ~ 1:4000，二抗 1:2000 ~ 1:5000。抗体浓度过高将造成高背景或没有条带，导致实验失败。
- 5、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。
- 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、当使用亲和素/生物素系统时，应避免使用含有脱脂奶粉的封闭液。
- 8、洗涤液、封闭液、抗体稀释液、ECL 工作液应足量使用，确保印迹膜处于湿润状态。
- 9、NaN<sub>3</sub> 能抑制 HRP 活性，回收第二抗体应避免使用 NaN<sub>3</sub>，如必需使用勿超过 0.01%。
10. 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。
11. 荧光持续时间很长，但开始反应后的 20min 内荧光更强一些，随后荧光会逐渐减弱，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。
12. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期:** 室温运输, 4°C密封避光保存, 12个月有效; 长期不用, -20°C可保存更长时间。

**相关产品:**

产品编号	产品名称
CC0005	磷酸缓冲盐溶液(1×PBS,无钙镁)
CS0001	ACK 红细胞裂解液(ACK Lysis Buffer)
DF0111	组织固定液(10% NBF)
DM0007	瑞氏-姬姆萨复合染色液
PE0080	Tris-HCl 缓冲液(1mol/L,pH6.8)
PW0026	Tween20/TBS 溶液(20×TBST,pH7.4)
TC1167	尿素(Urea)检测试剂盒(脲酶波氏比色法)
TO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)