

High ECL Enhanced Western Blotting Substrate

——请在使用前仔细阅读说明书



目录号：BG0015

保存条件：A 液和 B 液在 4 °C 保存一年

产品说明

本产品采用了独特的发光底物体系，High ECL Enhanced Western Blotting Substrate 中敏发光液是目前检测范围最广的商品化荧光 ECL 检测试剂，可用于 HRP 标记的 Western Blot 和 HRP 标记探针的核酸杂交。

产品特点

1. 具有高灵敏度和信噪比，可检测高 pg 到中 pg 抗原（如果需要检测低 pg 或高 fg 级别请使用 BG0001 超敏 ECL 发光液）；
2. 可在日光灯下进行操作；
3. 发光迅速，自发荧光可使 X 光胶片感光 30min 以上，特别适合痕量蛋白或核酸检测；
4. 检测范围更广，可以在绝大多数情况下获得理想结构。

试剂盒组成

Component	BG0015
A 液	50ml
B 液	50ml

使用方法

1. 执行常 SDS-PAGE、转膜和 Western Blot 步骤（注意用 HRP 标记 IgG 或用一抗-链亲和素-生物素-HRP 夹法）；
2. Western Blot 实验最后一次洗膜的同时配置新鲜的发光液混合物：分别取等体积的 A 液和 B 液，放入干净的容器中混合（建议立即使用工作液，室温放置数小时后仍可使用，但会影响灵敏度）；
3. 用镊子取出膜，搭在滤纸上沥干洗液但勿使膜完全干燥，将膜完全侵入发光液中（0.125ml 发光液/1cm² 膜），使其与发光液充分接触，室温孵育 3min 后立即压片曝光（注：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，使用过少的发光液不利于反应的进行，也会导致膜上条带曝光不均和明显降低灵敏度）；
4. 用镊子夹起膜，搭在滤纸上沥干发光液（勿洗去发光液）；
5. 打开 X 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 膜贴在保鲜膜上并用保鲜膜折起来完全包裹 Western Blot 膜，去除气泡和皱褶，可剪去边缘多余保鲜膜。
6. 用滤纸吸去多余发光工作液，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；
7. 暗房内压 X 胶片，分别曝光不同的时间，显影冲洗。

注意事项

1. 步骤 1~5 可在日光灯下操作，但是发光液暴露于强光下时间过久灵敏度可能会略降低，暗室操作可避免灵敏度降低的可能；请带手套操作，以免在膜上留下印迹；

High ECL Enhanced Western Blotting Substrate

—— 请在使用前仔细阅读说明书



2. 配置好的工作液应该立即使用，超过 30min 会严重影响灵敏度；配置好的发光液应注意避光，强烈光照会使工作液在 5~15min 内失效；
3. 品质较差保鲜膜包裹膜时可能产生淬灭，建议使用高品质保鲜膜。长时间曝光或蛋白过量，将加深背景并使得条带强弱失去线性关系；曝光不足则使得条带模糊；
4. NaN₃ 能抑制 HRP 活性，回收二抗时应该避免使用 NaN₃，如需使用勿超过 0.01%

本产品仅供科研使用，请勿用于医药、临床、食品及化妆品等。