

描述:超敏 ECL 显色液用于 Western、Northern 和 Southern blot 分子杂交的化学发光检测,比传统化学显色法灵敏度高,可达 pg 水平。原理是采用新型发光底物 (Luminol), 其与辣根过氧化物酶反应时产生很强的发光信号, 在暗室中对 X-光片感光, 以此检测微量蛋白而获得理想的实验结果。海基增强型 ECL 显色液具有灵敏度高, 持续时间长等特点。

组分

组分	数量
Super ECL A	25 ml
Super ECL B	25 ml

应用

在 Western 印迹分析, 核酸杂交以及 EMSA 实验中, HRP 标记的二抗或探针与靶分子结合再与底物反应产生可见光。

储存: 2-8°C, Super ECL A 要求避光保存。

操作方法 (以 Western Blot 为例)

- 按每平方厘米膜面积用 0.1-0.2 ml 配置显色液: 根据显色液的需要量, 取等体积 A 液和 B 液, 混匀后避光保存备用; 该显色液必须现配现用。
- 取出膜, 平放在干净的保鲜膜上, 膜的正面 (蛋白质面) 朝上, 在膜的中央加适量的配置好的显色液 (6×8 cm 的膜加 2 ml 显色液), 溶液向四周迅速扩散, 覆盖所有膜面。室温保温 5 分钟左右, 在此过程中请仔细观察信号的出现。注意: 如果信号强, 在暗室中能很快看到阳性信号出现。
- 待信号出现且稳定后, 用镊子夹起膜, 除去多余的显色液, 平放在干净的保鲜膜上, 膜的正面 (蛋白质面) 朝上, 在转移膜的上面再覆盖一层保鲜膜, 除去保鲜膜与转移膜之间的空气泡, 请务必保证保鲜膜是干净的, 不被其他杂物或液体污染。
- 在暗室中, 将膜的正面对 X-光片, 放入暗盒。第一次曝光时间在 1 分钟左右 (有经验的操作者可以根据信号的强

弱自行决定), 立即按要求对 X-光片进行显影和定影, 确定最佳曝光时间。曝光时间从数秒到数小时不等; 特别弱的过夜曝光也可。

注意

- PVDF 膜较硝酸纤维膜能更好的结合蛋白, 因此呈现较强的信号。选高质量的 PVDF 膜; 尽可能不用 Nylon 膜。
- 与抗体结合以后, 要保证膜处于湿润状态, 否则会导致背景较高。
- 没有信号的原因: 有些抗体不识别变性抗原, 有时需要考虑电泳过程对蛋白质结构的影响; 样品中无待测蛋白质或含量过低; 一抗效价低, 用量少, 可适当增加一抗的用量;
- 背景过高原因: 转移膜封闭不充分; 与抗体孵育后洗涤不彻底; 膜在处理过程中过干; 二抗用量过多等。
- 注意及时更换显影液、定影液。