

**描述:** 超敏 ECL 化学发光液用于 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。SerfullCare 超敏 ECL 化学发光液具有灵敏度高，持续时间长等特点。

#### 组分

组分	数量
超敏 ECL 发光液 A	25 ml
超敏 ECL 发光液 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，将膜的正面对着 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。