

产 品 说 明 书

Super ECL Prime（灵敏化学发光检测试剂盒）

产品货号：S6008S, S6008M, S6008L

产品规格：10 mL, 100 mL, 500 mL

产品内容：

组分 \ 规格	S6008S (10mL)	S6008M (100mL)	S6008L (500mL)
A 液	5 mL	50 mL	250 mL
B 液	5 mL	50 mL	250 mL

储存条件

4℃密封避光保存，短期可放置于室温。有效期见外包装。

产品介绍

Super ECL Prime 免疫印迹底物是用于增强型化学发光（ECL）的入门级过氧化物酶底物，性能可靠，但成本更低，性价比极高。

Super ECL Prime 免疫印迹底物适用于辣根过氧化物酶（HRP）的检测，该底物采用了与其它品牌相同的鲁米诺和过氧化物酶底物配方，无需对检测条件或孵育方案进行优化，从而大大节约成本。

Super ECL Prime（灵敏）特点：

1. 简单易用；
2. 灵敏度更高：可检测较低表达的蛋白；
3. 价格更经济：相比其他品牌的类似产品，在具有高品质和高性能的同时，价格更低。

使用方法

1. 执行常规 SDS-PAGE 电泳、转膜和 Western Blot 步骤后，0.25-1 $\mu\text{g/mL}$ 一抗室温孵育 1 h 或 4℃ 过夜，洗膜后，0.1-0.2 $\mu\text{g/mL}$ 二抗孵育 30-60 min。
2. Western Blot 最后一次洗膜时，新鲜配制发光工作液：分别取等体积的溶液 A 和 B，混匀。

注：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会有降低。

3. 成像仪检测：用镊子取出 PVDF 膜置于成像仪检测板上，含蛋白面朝上，沥干洗液但勿使膜完全干燥。将发光工作液（0.125 mL 发光工作液/ cm^2 膜）滴加在 PVDF 膜上，使发光液完全覆盖 PVDF 膜，室温孵育 3-5 min，参考仪器说明书进行检测。

4. 压片检测：用镊子取出 PVDF 膜置于保鲜膜上，含蛋白面朝上，沥干洗液但勿使膜完全干燥。将发光工作液（0.125 mL 发光工作液/ cm^2 膜）滴加在 PVDF 膜上，使发光液完全覆盖 PVDF 膜，室温孵育 3-5 min，弃发光工作液，用保鲜膜包好，将膜固定于片夹内，含蛋白面向上。暗室内压片 1 min，立即显影，根据结果再调整压片时间。或分别压片 0.5、1、3、5 min，然后一起显影观察结果。

注意事项

1. 发光液暴露于强光下时间过久灵敏度可能有降低，操作时注意避光。戴手套可以避免在膜上留下手印。
2. 长时间曝光会加深背景；蛋白过量，会使条带强弱变化失去线性关系；曝光不足，则条带模糊或较浅。
3. 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 曝光。



4. 由于发光液极其灵敏，强烈推荐大多数进口抗体稀释浓度为 一抗 1:1000~1:4000，二抗 1:5000~1:10000。抗体浓度过高将造成高背景或没有条带。
5. 某些保鲜膜可能会淬灭荧光，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. NaN_3 会抑制 HRP 活性，回收二抗应避免使用 NaN_3 ，如必需使用勿超过 0.01%。

常见问题

问题	可能的原因	解决方案
反向图像 (即白色条带黑色背景)	体系中过多的 HRP	进一步稀释 HRP 结合物
膜上有棕色或黄色条带		
在暗室污点发光		
信号持续时间少于 8 h		
信号微弱或没有	体系中太多的 HRP 耗尽底物，导致信号很快消退	进一步稀释 HRP 结合物
	抗原或抗体量不足	增加抗原或抗体含量
	蛋白转膜效率过低	优化转膜
高背景	体系中过多的 HRP	进一步稀释 HRP 结合物
	封闭不够	优化封闭条件
	封闭液不合适	尝试换另一种封闭液
	洗膜不够	增加洗膜的时间、次数或洗膜液体积
	过度曝光	降低曝光时间
	抗原或抗体浓度过高	降低抗原或抗体浓度
蛋白条带内有斑点	蛋白转膜效率过低	优化转膜程序
	水化膜不均	正确执行制造商的推荐水化膜过程
	膜和膜之间存在气泡	曝光前去除气泡

