



## ScibenECL Pico 超敏化学发光试剂盒说明书

### 一、产品描述

善本生物 ScibenECL Pico 超敏化学发光液是一款超灵敏 ECL 化学发光辣根过氧化物酶 (HRP) 偶联物的免疫印迹分析实验提供明亮信号的试剂盒，可为用户在免疫印迹分析过程中实现低皮克级的蛋白检测。其灵敏度和使用方法与 Thermo Scientific 化学发光底物 (SuperSignal™ West Pico Maximum Sensitivity Substrate, 货号 34077、34079、34080) 一样。ScibenECL Pico 超敏化学发光液能够兼容各种膜、封闭液和宽范围抗体稀释液，以出色性能、通用性和高性价比，满足用户的免疫印迹应用需求。

ScibenECL Pico 超敏化学发光液特点：

1. ECL：用于 HRP 的超灵敏化学发光底物；
2. 低皮克级灵敏度：检测硝化纤维素膜或 PVDF 膜上低皮克级 (Low-picogram,  $10^{-12}$ ) 的蛋白条带；
3. 长信号持续时间：在条件优化情况下，经底物孵育的印迹条带能够持续 6~8 小时的可检测光信号；
4. 稳定试剂：工作液室温下 24 小时有很好的稳定性；试剂盒在 4°C 密封避光下可稳定放置长达 1 年；
5. 价格更经济：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；
6. 0.1~0.5  $\mu\text{g/ml}$  一抗 (以 1 mg/ml 储存液稀释 1:2000~1:10000 倍)；
7. 10~50 ng/ml 二抗 (以 1 mg/ml 储存液稀释 1:20000~1:100000 倍)。

### 二、用途

用于 HRP 标记抗体的 Western Blot 和 HRP 标记探针的核酸杂交。

### 三、使用方法

1、执行常规 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。

#### 操作概述

注：优化抗原和抗体的浓度。必须使用建议的抗体稀释度，以保证阳性结果。

- 1) 将一抗浓度稀释到 0.1~0.5  $\mu\text{g/ml}$ ；
- 2) 将二抗浓度稀释到 10~50 ng/ml；
- 3) 将 A 液和 B 液两种组份按 1:1 比例混合，制备发光工作液；

(注：暴露于日光或任何其他强光可能损害工作液，为获得最佳结果，将此工作液保存在琥珀色瓶中，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)

- 4) 将印迹膜在该 ECL 发光工作液中孵育 3~5 分钟；
- 5) 移去多余试剂，并用清洁的塑料膜盖住该印迹膜；
- 6) 使印迹膜在 X 光胶片上曝光。

2、Western Blot 最后一次洗膜的同时新鲜配制发光工作液：分别取等体积的溶液 A 和 B，放入干净容器中混合。建议立即使用工作液，室温放置数小时后仍可使用但灵敏度略有降低。

3、用镊子取出膜，搭在滤纸上沥干洗液但勿使膜完全干燥。将膜完全浸入发光工作液 (0.01~0.1 ml 发光工作液/cm<sup>2</sup> 膜) 中，与发光工作液充分接触。室温孵育 3~5 分钟，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。

4、用镊子夹起膜，搭在滤纸上沥干发光工作液。但勿洗去发光液。

5、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。

6、暗房内压 X 光胶片，分别曝光不同的时间如数秒到数分钟。显影冲洗。

#### 四、储存方法

4 °C 密封避光保存 1 年以上。短期可放置室温。

#### 五、安全性

无特殊毒性，按普通化学品处理。

#### 六、注意事项

- 1、步骤 1~5 可在日光灯下操作；但发光液暴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之。戴手套可以避免在膜上留下手印。
- 2、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。
- 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 1~8 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 1:2000~1:10000，二抗 1:20000~1:50000。抗体浓度过高将造成高背景或没有条带，导致失败。
- 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、叠氮钠 ( $\text{NaN}_3$ ) 能抑制 HRP 活性，回收第二抗体应避免使用  $\text{NaN}_3$ ，如必需使用勿超过 0.01%。

南京善本生物技术有限公司

网址: <http://www.sciben.com>

电话: 025-85390309; 025-85300038

产品订购: [sales@sciben.com](mailto:sales@sciben.com)

技术支持: [support@sciben.com](mailto:support@sciben.com)

产品编号: MR1005

生产批号:



善本生物网站



微信公众号