

## Super ECL Star

### 特超敏 ECL 发光液（低飞克级）

#### 产品介绍

Super ECL Star 免疫印迹底物是一款用于增强型化学发光(ECL)的顶级过氧化物酶底物，具有低至低飞克级的超高灵敏度检测限。

Super ECL Star 底物通过辣根过氧化物酶(HRP)实现超低丰度、样品有限蛋白的免疫印迹检测。Super ECL Star 特超敏发光液用于检测直接或间接标记辣根过氧化物酶 HRP 的抗体及其关联的抗原。由于采用了独特的发光底物系统，Super ECL Star 特超敏发光液具有极高的信噪比，保证了最佳的检测效果。

#### 应用范围

免疫印迹实验

#### 产品货号

NS6010S/NS6010M/NS6010L

#### 储运条件

4°C密封避光保存，短期可放置于室温，禁止冻融，有效期见外包装；冰袋运输。

#### 产品特点

**高灵敏度：**低飞克级检测水平，卓越的信号强度和线性度实现极低蛋白质水平的定量分析；

**高信噪比：**超高灵敏度的同时发光背景显著降低，精准发光提高信噪比，适用长曝光检测极低目的蛋白信号；

**明亮信号：**通过胶片或成像系统曝光，易于捕获图像，可在 NC 膜或 PVDF 膜上检测超低丰度、样品有限蛋白的条带；

**价格经济：**配方经过优化，可适用于更高稀释度的抗体检测，减少冗长优化过程。

#### 产品组分

| 组分 | NS6010S (10 mL) | NS6010M (100 mL) | NS6010L (500 mL) |
|----|-----------------|------------------|------------------|
| A液 | 5 mL            | 50 mL            | 250 mL           |
| B液 | 5 mL            | 50 mL            | 250 mL           |

#### 注意事项

- 步骤1~4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，建议在暗房操作。请穿实验服、佩戴一次性手套且使用干净镊子等洁净器材，避免外源蛋白质及金属离子污染。
- 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。可根据实际情况调整蛋白上样量、抗体稀释比例等。
- 如果曝光后条带不佳或信号衰减过快，可用洗膜缓冲液洗膜，重新用飞克级ECL发光液(NS6009)曝光。
- 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定胶片上条带的位置和大小。
- NaN<sub>3</sub>会抑制HRP活性，回收二抗应避免使用NaN<sub>3</sub>，如必须使用勿超过0.01%。

- ECL A液和B液吸液过程中务必更换枪头，避免A液、B液交叉污染，致使活性成分失效。
- ECL工作液配置完成后请于一天内使用完，请勿留置到第二天，以免影响实验结果的准确性。
- 各溶液使用后，请盖紧瓶盖避光保存，以防失效；特别是B液，含有氧化剂，容易被还原而失效。
- 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。
- 本产品仅限于科研，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。

#### 操作步骤

- 执行常规 SDS-PAGE 电泳、转膜 Western Blot 步骤后，0.05~0.2 μg/mL 一抗室温孵育 1 h 或 4°C过夜(推荐)，洗膜后，0.01~0.1 μg/mL 二抗孵 30~60 min。
- Western Blot 最后一次洗膜时，根据检测印记膜的大小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。
- 成像仪检测：用镊子取出 PVDF 膜，沥干洗液但勿使膜完全干燥，置于合适大小容器内，含蛋白面朝上。加入发光工作液(0.125 mL 工作液/cm<sup>2</sup> 膜)，使发光液完全覆盖 PVDF 膜充分接触，室温孵育 1~2 min，用镊子取出 PVDF 膜沥干发光液但勿使膜完全干燥，置于成像拍照板上，参考仪器说明书进行检测。
- 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<sup>2</sup> 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。

#### FAQ

- 问：反向图像（即白色条带黑色背景）、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 是什么原因造成的？该怎么解决？  
答：可能由于体系中过多的 HRP。可进一步稀释 HRP 结合物。
- 问：信号微弱或没有是什么原因造成的？该怎么解决？  
答：抗原或抗体量不足；蛋白转膜效率过低。可进一步调整蛋白上样量、抗体稀释比例量或优化转膜。对于弱信号，尝试多次短曝光（30s、1min、5min）而不是单次长曝光。
- 问：高背景是什么原因造成的？该怎么解决？  
答：可能的原因有：体系中过多的 HRP；封闭不够；封闭液不合适；洗膜不够；过度曝光；抗原或抗体浓度过高。可进一步稀释 HRP 结合物；优化封闭条件；尝试换另一种封闭液；增加洗膜的时间、次数或洗膜液体积；降低曝光时间；降低抗原或抗体浓度。
- 问：蛋白条带内有斑点是什么原因造成的？该怎么解决？  
答：可能是蛋白转膜效率过低；水化膜不均；膜和膜之间存在气泡。可优化转膜程序；正确执行制造商的推荐水化膜过程；转膜前去除气泡。

#### 相关产品

| 产品货号  | 产品名称                   |
|-------|------------------------|
| R6166 | RIPA裂解液（强，无抑制剂）        |
| W6001 | Western及IP细胞裂解液        |
| S6171 | PAGE彩色快速凝胶制备试剂盒(10%)   |
| S6172 | PAGE彩色快速凝胶制备试剂盒(12.5%) |

| 产品货号  | 产品名称                                    |
|-------|-----------------------------------------|
| S6170 | PAGE彩色快速凝胶制备试剂盒(7.5%)                   |
| S6177 | PAGE彩色快速凝胶制备试剂盒(15%)                    |
| P6163 | 蛋白酶抑制剂混合液(EDTA-Free, 100×in DMSO)       |
| S6168 | SDS-PAGE蛋白上样缓冲液（变性，非还原，5×）              |
| B6167 | BCA蛋白定量检测试剂盒                            |
| B6169 | BCA蛋白定量检测试剂盒（即用型）                       |
| H6161 | HRP Goat Anti-Mouse IgG(H&L)（HRP羊抗鼠二抗）  |
| H6162 | HRP Goat Anti-Rabbit IgG(H&L)（HRP羊抗兔二抗） |
| P6220 | 彩色预染蛋白Marker（25-400 kDa，四色）             |
| P6221 | 彩色预染蛋白Marker（25-300 kDa，三色）             |
| P8028 | 彩色预染蛋白Marker（10-250 kDa，双色）             |
| P6222 | 彩色预染蛋白Marker（10-250 kDa，三色）             |
| P6223 | 彩色预染蛋白Marker（8-250 kDa，三色）              |
| P6110 | 彩色预染蛋白Marker（10-180 kDa，三色）             |
| P6224 | 彩色预染蛋白Marker（2.7-40 kDa，三色）             |