

版本号: PA210831

## Pro-light HRP Chemiluminescent Kit

## Pro-light HRP化学发光检测试剂

目录号: PA112

### 产品内容

产品组成	PA112-01	PA112-02
试剂A (Reagent A)	25 ml	2×25 ml
试剂B (Reagent B)	25 ml	2×25 ml

### 储存条件

A液和B液2-8℃避光分别保存，保质期一年。

### 产品简介

Pro-Light HRP 化学发光检测试剂是基于Luminol的新一代增强型化学发光底物试剂，它由辣根过氧化物酶（HRP）催化发生化学反应，发出荧光，结果可以通过X光片压片和其他显影技术展现或使用Luminometer检测。溶液A主要成分为Luminol及特制发光增强剂。溶液B主要成分为H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>及特制稳定剂。

---

## 客户自备溶液

1. 漂洗缓冲液：PBS中含0.05-0.1%的Tween-20。
2. 封闭液。
3. 用封闭液或PBS稀释一抗，每个抗体的适宜稀释度根据实验来决定。
4. 用封闭液或PBS稀释HRP标记的二抗，每个二抗的适宜稀释度根据实验来决定。
5. 暗室、暗盒、X光片等曝光设备。

## 操作步骤

1. 封闭：将膜与封闭液室温振荡孵育60 min，或4℃过夜。
2. 将膜与用封闭液稀释的一抗室温振荡孵育1-2 h或4℃过夜。
3. 用漂洗缓冲液洗膜2-3次，每次5 min。

**注意：增加漂洗次数、加大漂洗缓冲液量将有助于降低背景。**

4. 将膜与用封闭液稀释的HRP标记的二抗室温振荡孵育1 h。
5. 用漂洗缓冲液洗膜2-3次，每次5 min以除去未结合的HRP标记的二抗。

**注意：膜和二抗孵育后必须充分洗涤，以除去膜上未结合的HRP标记的二抗。**

6. 将底物试剂A和试剂B等体积混合制备底物工作液，底物工作液应现用现配。

**注意：底物试剂从4℃拿出后应平衡至室温，经实验证明反应温度是10-50℃，推荐反应温度是20-37℃。每cm<sup>2</sup>膜约需0.125 ml的底物工作液，为了取得更好的效果，建议使用新鲜配制的底物工作液。**

7. 洗涤好的膜摆放到保鲜膜上，将底物工作液加到膜上后应立即用保鲜膜包好，迅速放入暗盒中进行曝光。
8. 暗室中小心地X光片压到膜上，先初始曝光1 min，观察结果。改变曝光时间以取得理想效果。

**注意：发光反应的前5-30 min光信号很强，一般能持续数小时，但随着时间延长，光信号降低。若抗原含量低、信号弱，可以适当延长曝光时间。**

---