

# 超敏 ECL 化学发光检测试剂盒

## 目录号

GES1010

## 产品组成

组分	SE101-100	SE101-500
ECL Solution A (Substrate)	50 mL	250 mL
ECL Solution B (Peroxide)	50 mL	250 mL

## 保存条件

2~8°C避光保存 12 个月。

## 产品简介

超敏 ECL 化学发光检测试剂盒采用 Lumino 化学发光系统，用于检测直接或间接标记辣根过氧化物酶 HRP 标记的抗体及其关联的抗原。灵敏高，信号持续性好，可以使用 X-光胶片曝光或者化学发光成像仪进行检测。

## 产品特点

- 高灵敏度：最低可检测皮克级抗原；
- 信号稳定：信号持续时间更长；
- 兼容 PVDF 膜与 NC 膜。

## 适用范围

本试剂盒适用于 Western Blot 等基于 HRP 标记的抗体的蛋白印迹检测。

## 注意事项

1. ECL 发光液是 HRP 的显色底物，因此检测系统最终必须基于 HRP 酶标记抗体。
2. 配制 ECL 工作液时吸取 ECL Solution A 液和 B 液时务必要更换吸头，工作液配置后应立即使用，配置后避光保存，室温放置时间过长会导致灵敏度降低。
3. 操作过程中请穿实验服并佩戴手套使用干净镊子等器材避免污染膜表面，将膜有蛋白的一面朝上，并保持膜表面湿润。

4. 本产品极其灵敏，建议按照抗体供应商的推荐稀释比例，可做梯度稀释摸索抗体最佳使用浓度。
5. 叠氮化钠 (NaN<sub>3</sub>) 能抑制 HRP 活性，缓冲液中尽量避免使用叠氮化钠作为防腐剂。
6. 各溶液使用后请盖紧瓶盖。

## 使用方法

1. 进行常规电泳、转膜、孵育一抗、HRP 标记二抗、洗膜；
2. 配制 ECL 工作液：取 ECL Solution A 和 ECL Solution B 按 1：1 等体积混合（每平方厘米印迹膜约需要 0.125 mL ECL 工作液），工作液建议现用现配；
3. 将现配的 ECL 发光液滴加到膜上，保证均匀覆盖，室温孵育 2~3 min；
4. 沥去多余的发光工作液，将膜置于两层保鲜膜之间，蛋白面朝上，赶尽气泡，进行 X 光压片或使用化学发光成像系统进行成像；
  - a. X 光片曝光：在暗室中将膜对 X 光片曝光。曝光时间从几秒到几分钟不等，将底片显影。若有必要，可根据显影结果调整曝光时间进行第二次曝光以达到最佳效果；
  - b. CCD 成像仪：拍照按仪器说明书进行。

## 常见问题与解决办法

### Q1：条带信号弱或无条带？

#### A1：

- 1) 样品中目的蛋白含量低。适当增加上样量；
- 2) 目的蛋白未完全转移到膜上。优化转膜条件、建议更换缓冲液、确保膜使用前做预处理，确定转膜时胶和膜之间无气泡；
- 3) 抗体使用浓度低或孵育时间不够。增加抗体使用浓度或孵育时间；
- 4) 曝光时间太短。适当延长曝光时间；
- 5) 局部底物消耗过快。降低上样量、优化抗体使用浓度、增加 ECL 底物用量。

### Q2：背景过高？

#### A2：

- 1) 封闭不充分。优化封闭剂种类、浓度及封闭时间；
- 2) 洗膜不充分。增加洗膜时间和次数；
- 3) 抗体浓度过高。建议按照抗体供应商的推荐稀释比例进行优化，可做梯度稀释摸索抗体最佳使用浓度；
- 4) 曝光过度。减少曝光时间。