

Super ECL Kit (超敏化学发光检测试剂盒)

货号/规格: D1001/10 ml, D1002/100 ml, D1003/500 ml

产品组分

组分	D1001	D1002	D1003
A 液	5 ml	50 ml	250 ml
B 液	5 ml	50 ml	250 ml

产品说明

Super ECL Kit 用于检测免疫印迹实验 (Western Blotting) 中辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的抗体。本品的免疫印迹底物是增强型化学发光 (ECL) HRP 底物, 可在免疫印迹分析中实现低表达或高价值蛋白的检测。该 ECL 底物能够兼容各种膜、封闭液和宽范围抗体稀释液。

产品特点

1. 灵敏度极高: 皮克级灵敏度;
2. 兼容性强: 可检测硝化纤维素膜或 PVDF 膜上的蛋白条带;
3. 信号持续时间长: 条件优化的情况下, 经底物孵育的印迹条带能够持续输出 6 至 8 小时的可检测光信号;
4. 稳定性高: 工作液在 24 小时内保持稳定;
5. 价格经济: 配方经过优化, 适用于浓度极低的抗体检测
 - 0.2-1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 一抗 (或 1 mg/mL 的稀释范围 1:1,000-1:5,000)
 - 10-50 ng/mL 二抗 (或 1 mg/mL 的稀释范围 1:20,000-1:100,000)

保存条件

4°C 密封避光保存, 短期可放置于室温。

使用方法

1. 执行常规 SDS-PAGE 电泳、转膜和 Western blotting 步骤, 0.2-1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 一抗孵育 1 h 或过夜, 洗膜后, 10-50 ng/mL 二抗孵育 30-60 min。

2. Western blotting 最后一次洗膜时配制发光工作液: 分别取等体积的 A 液和 B 液, 放入干净容器中混匀, 室温放置备用。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 (0.1 mL 发光工作液/cm² 膜) 中, 与发光工作液充分接触。室温孵育 3-5 min。

4. 取膜, 弃发光工作液, 用吸水纸略吸去过多的液体。将膜放在两片保鲜膜中间, 随后进行压片检测或成像仪检测。

5. 检测

压片检测: 将膜固定于片夹内, 蛋白带面向上。暗室内压片 1 min, 立即显影定影, 根据结果再调整压片时间。或直接分别压片 30 s、1 min、3 min、5 min, 然后一起显影定影观察结果。

成像仪检测: 将膜放置到成像仪内, 参考仪器说明书进行检测。

注意事项

1. 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, 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 min 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 1-10 h。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。

常见问题及解决方法

问题	可能的原因	解决方法
反向图像 (即白色条带黑色背景)		
膜上有棕色或黄色条带	体系中过多的 HRP	进一步稀释 HRP 结合物
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
蛋白条带内有斑点	抗原或抗体浓度过高	降低抗原或抗体浓度
	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

本品仅供科学研究使用。