

产品介绍

Proteintech 研发的超敏ECL 化学发光检测试剂盒（**Ultrasensitive ECL Detection Kit, PK10003**）是免疫印迹实验中与辣根过氧化物酶（**HRP**）配套使用的底物检测试剂盒。本产品能够在**HRP** 的催化下发生化学反应而发光，可用于检测固定在膜上的蛋白质等生物大分子，由于使用了两种新的增强剂混合协同增强发光，其高灵敏度能够检测低**pg** 级别的抗原，发光信号更强烈持久，使用照相技术（**X-光**胶片曝光）或者其他成像方法（如荧光或化学发光成像仪）进行检测。

产品特点

- 高信噪比——与竞品相同灵敏度ECL相比，信号更强，背景更低。
- 信号持续时间长——信号持续时间长达**12**小时以上。
- 兼容性强——适用于**PVDF**膜和**NC**膜，同时可用于照相技术（**X-光**胶片曝光）或者其他成像方法（如荧光或化学发光成像仪）。
- 稳定性好——**4-8℃**稳定保存一年以上，**37℃**加速**3**个月灵敏度无变化。
- 多种包装规格——**100 mL / 200 mL / 500 mL**
- 通用型**B**液——所有不同灵敏度ECL通用相同的**B**液。

包装规格

产品成分

100 mL / 200 mL / 500 mL

组分/规格	100 mL	200 mL	500 mL
A液	50 mL	100 mL	250 mL
B液	50 mL	100 mL	250 mL

保存条件

使用方法

- 4℃密封避光保存，一年有效。
1. **Western** 二抗孵育后，印迹膜经过数次充分洗涤后，用平头镊将膜取出，用吸水纸略吸去过多的液体（切勿接触膜的蛋白质），然后置于一洁净器皿内或是保鲜膜上。
2. 根据印迹膜大小，将**A**液与**B**液等体积混合，配制为发光检测底物工作液（使用量约为每**10 cm²** 膜**1 mL** 或者根据个人实验习惯使用）。滴加发光底物工作液到印迹膜上，确保工作液均匀覆盖在膜上，放置**1-2** 分钟。
3. 取膜，弃发光底物工作液，用吸水纸略吸去过多的液体，将膜放置于两片洁净保鲜膜中间，此过程应小心完成，避免膜与膜之间产生气泡。随后进行压片检测或是荧光成像仪检测。
4. 压片检测：将膜固定于片夹内，暗室内压片**1** 分钟，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**秒、**1**、**3**、**5** 分钟，然后一起显影定影观察结果。
5. 荧光成像仪检测：将膜放置到荧光成像仪内，参照仪器说明书进行检测。

问题解答

问题	可能原因	解决方法
高背景（背景高或无特异性蛋白带）	一抗的稀释没有使用正确的缓冲液和正确的浓度	使用推荐的封闭液和 TBS/T 稀释抗体并 4℃ 孵育过夜
	化学发光检测时没有使用相应的膜	使用高质量的 NC 膜或 PVDF 膜
	膜封闭不足导致一抗或二抗产生大量的非特异性结合	用含 5% 脱脂奶粉的 TBS/T 在室温封闭 1-2 小时
	二抗的稀释没有使用正确的缓冲液和正确的浓度，或二抗的特异性差	一些二抗会与蛋白产生非特异性的结合。因此在检测中可加入一步二抗的对照试验，在没有一抗的情况下，直接加入二抗孵育。也可将二抗用含 5% 脱脂奶粉的 TBS/T 在室温下孵育 1 小时
	配制试剂的用水水质不佳	在配制试剂时（尤其是磷酸化抗体）使用 Milli-Q 或其它超纯的去离子水
	ECL 灵敏度较高	更换灵敏度更低的 ECL
	一抗孵育不足	适当延长孵育时间（ 4℃ 孵育过夜）
	转膜不完全	转膜时采用更高的电压和更长的时间。也可采用预染的蛋白 Marker 监控转膜的过程
	蛋白的表达水平低于检测底限	在每孔中加入更多的蛋白； 换用表达高的样本或细胞； 检测前适当刺激蛋白的表达
信号弱（检测不到信号）	二抗与一抗的结合率太低	提高二抗的浓度或换用与一抗匹配的二抗
	配制试剂时发生交叉污染	重新配制各种试剂

注意

1. 为获得最佳实验结果，请务必优化实验条件，包括检测样品的用量、一抗和二抗稀释度、杂交膜及封闭试剂的选择。
2. 务必使用推荐的抗体稀释浓度以获得阳性结果，最佳抗原和抗体用量须通过预实验来确定。
3. 由于奶粉中含有内源性生物素，在使用亲和素/生物素系统时，封闭液中应避免使用奶粉。
4. 由于叠氮钠是**HRP** 抑制剂，在缓冲液中应避免使用叠氮钠作为防腐剂。

5. 在与膜发生接触过程中，请佩戴手套且使用干净镊子等洁净器材，避免蛋白污染及高背景。
6. A液和B液在吸取过程中必须要更换枪头，A液和B液相互污染后会导致A液或B液逐渐失效，影响后续的使用效果。A液与B液混合后须尽快使用，放置过久会影响灵敏度。
7. 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。
8. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

实验结果

