超敏ECL化学发光试剂盒

货号：ZY-WB012

产品简介

本产品是一种灵敏度极高的化学发光试剂盒，基本原理是以luminol为基础的化学发光；可与二抗上偶联的辣根过氧化物酶（horseradish peroxidase, HRP）发生反应而发光，通过X-光胶片曝光或其他成像方法（如荧光或化学发光成像仪）进行检测；低浓度样本依然能够检测信号，节省样本；低浓度抗体（一抗、二抗）孵育之后依然能够检测到信号，节省珍贵的抗体；相较于灵敏ECL化学发光试剂盒，信号值至少增强10倍。本抗体稀释液适合普通抗体的稀释，可以防止抗体效价下降，减少抗体非特异性吸附。

储存与运输

冰袋（wet ice）运输；2-8℃避光保存，有效期12个月。

组成

Component	50ML	100ML	500ML
超敏ECL A液	25 mL	50 mL	250 mL
超敏ECLB液	25 mL	50 mL	250 mL
说明书	1份		

操作步骤

1. 将ECL A液和ECL B液等体积混合制成ECL工作液，室温配制，现配现用；

2. Western Blot实验中PVDF膜（或NC膜）经二抗孵育后，多次洗涤，滤纸吸去多余液体；将膜放在两片洁净保鲜膜（或PE手套）中间，加入ECL工作液覆盖膜表面，此过程应小心完成，避免膜与膜之间产生气泡；

3. 充分反应之后，用滤纸或吸水纸吸去多余的ECL工作液，随后进行压片检测或是荧光成像仪检测；

4.压完的胶片用显影、定影试剂进行显影和定影（若为荧光成像仪曝光忽略此步骤）；根据发光强度调整曝光条件。

注意事项

1. 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。

2. 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，避免外源蛋白质及金属离子污染。

3. 叠氮化钠会抑制HRP的活性，所有相关试剂应避免使用。

4. 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。

注意事项

5. 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。另外，A液不要靠近冰箱内壁保存，防止因局部温度过低析出结晶。如果析出结晶，可37°C温水浴溶解混匀后再使用。

6. ECL化学发光试剂盒选择参照附表一，一抗及二抗推荐稀释比测试数据均来自自研抗体。

7. ECL化学发光检测常见问题及解决方案参照附表二。

8. ECL化学发光试剂盒A/B液均对人体有害，操作时务必小心，注意有效防护，避免直接接触人体或吸入呼吸道。

9. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

附表一：

产品名称	普通ECL化学发光试剂盒	灵敏ECL化学发光试剂盒	超敏ECL化学发光试剂盒
检测极限	纳克级	皮克级	飞克级
一抗推荐稀释比(1 mg/mL储存液)	1:1000-1:5000	1:4000-1:10000	1:10000-30000
二抗推荐稀释比(1 mg/mL储存液)	1:1000-1:6000	1:3000-1:60000	1:6000-150000
特点及适用性	宽范围，适用性广	宽范围，适用性广，灵敏度高，中丰度蛋白节省抗体	极高灵敏度，低丰度蛋白，抗体效价低或比较珍贵

附表二：ECL化学发光检测常见问题及解决方案

常见问题	可能原因	解决方法
高背景（背景较高或无特异性条带）	一抗、二抗稀释没有使用正确的缓冲液和浓度	适当降低稀释比，降低一抗、二抗的浓度
	封闭液使用不正确或封闭不充分	磷酸化蛋白检测务必使用BSA或无蛋白封闭液封闭；膜孔径越小，封闭及洗脱时间应越长
	—抗孵育不充分	适当延长孵育时间（4C孵育过夜）
信号弱	一抗、二抗使用浓度偏低	提高一抗、二抗使用浓度
	蛋白丰度低	换用灵敏度更高的ECL化学发光试剂盒
荧光迅速猝灭，出现空心条带（鬼带）	目的条带荧光过强，快速消耗发光底物，底物消耗完之后就会出现反白的情况	降低蛋白上样量或一抗、二抗的用量
膜上出现棕色或黄色条带	目标区域HRP酶含量过于丰富，产生大量自由基，致使HRP酶氧化失活	降低蛋白上样量或一抗、二抗的用量