

产品介绍

Proteintech 研发的灵敏ECL化学发光检测试剂盒 (Sensitive ECL Detection Kit, PK10002) 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 pg 级别的抗原, 发光信号强烈持久, 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°C 稳定保存一年以上, 37°C 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

100 mL / 200 mL / 500 mL

产品成分

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

4°C密封避光保存, 一年有效。

使用方法

- 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。
- 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。
- 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。
- 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。
- 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°C 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
信号弱 (检测不到信号)	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°C 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
	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
	ECL 灵敏度较低	更换灵敏度更高的 ECL

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，比较容易被还原而失效。
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

