

飞克级超敏ECL液

db40001

Package : 50ml+50ml

Product Name : 飞克级超敏ECL液**Cat.No.:** db40001**Package :** 50ml+50ml**Storage :** 2-8°C避光保存 一年有效**产品内容:** 超敏ECL液 A+超敏ECL液 B**产品规格:** 50ml+50ml**保存方法:** 2-8°C避光保存，一年有效。**产品简介**

本试剂盒应用于免疫印迹实验，以化学发光法检测蛋白质。其原理是以辣根过氧化物酶（HRP）标记的抗体直接或间接结合膜上的目的蛋白质，在洗膜后加入本试剂盒配制的ECL工作液，即可由HRP催化发出荧光。

本产品对抗原的最低检测限可达到中飞克级，在Western blot实验中，一抗（1 mg/mL）储存液可稀释1:1,000至1:50,000倍，二抗（1mg/mL）储存液可稀释1:50,000至1:200,000倍。发光信号持久，结果可以通过X光胶片曝光或者其他适当荧光成像设备进行检测。

操作步骤

1.进行常规Western Blot。

2.ECL工作液按照1:1的比例等体积混合适量A液和B液制备。

注：工作液最好在临近使用前配制，推荐使用剂量：0.1ml工作液/cm²膜。

3.用镊子取出洗好的膜，沥干膜上洗膜液，将结合有蛋白的一面朝上，放置于洁净保鲜膜上。

4.加上配好的ECL工作液，孵育时确保工作液覆盖整张膜，室温孵育1-2min。

5.弃去印迹膜上ECL工作液，将一张洁净的保鲜膜平整的铺在印迹膜上。

6.将处理好的印迹膜置于X光片盒中，在暗室中取一张胶片小心置于膜上，曝光时间取决于膜上的发光强度，曝光后立即显影定影，或将印迹膜放置到荧光成像仪内，按仪器说明书进行检测。

注意事项

1.本ECL试剂盒灵敏度高，需要优化好上样量、一抗、二抗浓度和稀释液、印迹膜及封闭试剂，并按照蛋白表达丰度，参考推荐的抗体稀释比例，来获得最佳实验结果。

2.如果印迹膜上条带过亮时，建议使用膜再生液去除抗体后重新封闭孵育，并提高一抗二抗稀释比例。如果条带过暗也可将二抗稀释比例降低至1:5000至1:10,000倍，以达到最佳效果。

3.本试剂盒A液和B液不可以相互污染，否则会降低产品的使用效果。

4.发光强度会随时间缓慢减弱，建议在两小时内完成实验。

5.孵育二抗后，洗膜缓冲液应避免使用叠氮钠，叠氮钠是HPR的抑制剂。

6.为了您的安全和健康，请穿戴实验服并戴一次性手套操作。

遇到的问题	原因分析	推荐解决方案
胶片出现反影		
膜上出现棕色或黄色条带	反应系统中 HRP 量过多	稀释 HRP 标记物
暗室中观察到强烈发光		
条带有空斑		
发光信号持续时间短	保鲜膜、显影液或定影液污染	养成良好的实验习惯
	反应系统中 HRP 量过少	增加 HRP 标记物
	转膜的效率低	提高转膜效率，用预染Marker判断。

胶片无条带显现或者信号较弱	抗原、抗体量少或不匹配	增加抗原/抗体量或选择合适抗原/抗体
	X光胶片有问题	曝光后 X 光谱全黑（而非透明色），则表明胶片已完全曝光，使用新的 X 光片
	显影/定影液有问题	可预先曝光一张胶片进行判断，如有问题当换用新的显影/定影液
高背景	反应系统中 HRP 量过多	稀释 HRP 标记物，延长封闭时间
	抗体未清洗干净	增加洗膜次数
	封闭不完全	优化封闭条件
	使用错误的封闭剂	使用其他的封闭剂
	过度曝光	降低曝光时间
非特异性条带	一抗用量过多或者特异性较差	减少一抗稀释比例或者更换一抗
	SDS引起蛋白非特异性结合	实验流程中避免使用 SDS