



## 超敏 ECL 化学发光即用型底物

**产品货号:** AR1172

**产品名称:** 超敏 ECL 化学发光即用型底物

**产品批号:** 见外包装标签

**产品规格:** 200ml 工作液 (可用于 2000cm<sup>2</sup> 的膜)

溶液 A      100ml

溶液 B      100ml

**产品保存:** 4°C 避光保存, 一年有效。

### 产品说明:

博士德生产的超敏 ECL 化学发光试剂盒, 是一款具有超高灵敏度的化学发光(ECL)底物, 可与二抗上耦连的辣根过氧化物酶发生化学反应, 发出荧光, 从而可以通过用 X 光片压片或 CCD 成像仪检测样品, 当底物与优化的抗体浓度和封闭缓冲液配合使用时, 可检测到常规 ECL 底物无法检测的低丰度靶蛋白。

### 产品特点:

- 1.用于辣根过氧化物酶(HRP)的化学发光底物;
- 2.使用适当的一抗和二抗时, 可在 NC 膜或 PVDF 膜上检测丰度为低皮克级的蛋白条带;
- 3.所得信号的可定量检测范围跨越两个数量级;
- 4.通过胶片或成像系统进行曝光, 易于捕获图像;
- 5.试剂盒组分能够在 4°C 条件下稳定放置一年;
- 6.配方经过优化, 可适用于浓度极低的抗体检测。

### 重要产品信息:

好的免疫印迹结果需要优化实验条件, 包括样品量, 凝胶类型, 转移方法, 膜类型, 封闭剂, 洗涤缓冲液, 一抗浓度, 二抗浓度和孵育时间等。

- 1.为获得最佳效果, 在孵育步骤中使用摇床。
- 2.不要使用叠氮化钠作为缓冲液的防腐剂, 它会抑制 HRP 的活性。
- 3.始终戴上手套或使用干净的塑料镊子, 金属装置必须没有可见的生锈痕迹, 这写都可能导致斑点或高背景。
- 4.工作液暴露在阳光下或任何其他强光下都可能损害工作液使用效果。

**FOR RESEARCH USE ONLY. NOT FOR DIAGNOSTIC AND CLINICAL USE.**



5.由于封闭剂与抗体的交叉反应引起非特异性信号，所以实验测试对于确定每种蛋白质印迹系统的适当封闭剂是至关重要的。

6.当使用抗生物素蛋白/生物素系统时，避免使用牛奶作为封闭剂，牛奶中含有不同量的内源性生物素，导致高背景信号。

7.使用足够量的洗涤缓冲液，封闭缓冲液，抗体溶液和底物工作溶液来覆盖印迹膜并确保其不变干。使用大体积的封闭和洗涤缓冲液可以使非特异性信号最小化。

8.将 Tween-20 洗涤剂（终浓度为 0.05-0.1%）加入到封闭缓冲液和所有稀释的抗体溶液中，以减少非特异性信号。

#### **注意事项：**

- 1.A 液和 B 液吸取过程中必须更换移液器枪头，避免相互污染失效。
- 2.A 液和 B 液混合为工作液后，需避免强氧化剂如次氯酸钠等工作液的影响。
- 3.须确保试剂瓶干净，无微生物或其它试剂污染。
- 4.为了您的安全，请穿实验服并佩戴一次性手套。

#### **需要材料：**

NC 膜或 PVDF 膜；

X 射线胶片或成像系统；

摇床；

洗涤缓冲液：含有 0.05-0.1%吐温 20 的洗涤液，PBS：10mM 磷酸钠，150mM NaCl，pH7.2

TBS：10mM Tris，150mM NaCl，pH7.4；

特异性的一抗，用洗涤缓冲液或封闭缓冲液稀释；

HRP 标记的二抗，特异性针对一抗，用洗涤缓冲液或封闭缓冲液稀释；

封闭液：洗涤缓冲液中 1-5%（w/v）封闭剂（例如酪蛋白，BSA 或脱脂奶粉）。

**注意：博士德的 ECL 底物与所有封闭缓冲液兼容**

#### **使用说明：**

- 1.室温封闭膜 60 分钟，同时摇动。
- 2.去除封闭液并添加一抗，在室温振荡孵育 1 小时或在 2-8℃振荡过夜。
- 3.将膜悬浮于清洗缓冲液中摇动 5 分钟以上，更换洗涤缓冲液至少 4-6 次。增加洗涤缓冲液体积，洗涤次数和洗涤时间可能有助于背景信号最小化。



4.在室温下孵育二抗 1 小时，同时摇动。

5.重复步骤 3，去除未结合的 HRP 结合物。

注意：与 HRP 结合物孵育后，膜必须彻底清洗。

6.通过混合等量的检测试剂 A 和 B 来制备底物工作溶液。每平方米膜使用 0.1mL 工作溶液。

7.在室温下用工作液孵育印迹膜 1-2 分钟。

8.将印迹膜放在透明的保鲜膜或保护膜中。使用吸收性的纸巾去除多余的液体，小心地将气泡压出。

9.将印迹膜放在 X 光胶片或成像系统上显色。底物孵育后的 30 分钟内，发光最强烈。

**疑难解答：**

膜整个面都发光	酶标二抗量过多	减少二抗的浓度
膜上有棕色或黄色带		
发光时间短		
低信号或无信号	抗原或抗体量不足	减少二抗的浓度
	转印失败	优化转印
	二抗或底物活性低	更换二抗或底物
高背景	二抗浓度过高	降低二抗的用量
	封闭不够充分	优化封闭
	封闭液使用不当	更换质量更好的封闭液
	洗涤不够充分	增加洗涤时间和次数
	抗原或抗体浓度过高	降低抗原或抗体的用量
	抗体特异性差	更换质量更好的抗体
条带里有斑点	无效的蛋白转移	优化转印
	不均匀的膜	更换质量更好的膜
	转印过程中膜胶之间有气泡	小心的赶出气泡
膜上有斑点	封闭液不均匀	过滤封闭液
非特异性的条带	HRP 标记的二抗浓度过高	降低二抗的用量
	SDS 引起的蛋白非特异性结合	不使用 SDS
	抗体特异性差	更换质量更好的抗体
	封闭不充分	优化封闭