

超敏型化学发光液

Super ECL Kit

产品编号	试剂名称	规格	保存条件
FRT-01	Super ECL-A 液	50 ml	4 °C 1 年
	Super ECL-B 液	50 ml	4 °C 1 年
	说明书	1 份	

一、运输与存储条件。

本产品低温（冰袋）运输，4 °C 避光保存，有效期 1 年。

二、注意事项（实验前阅读）。

1. 吸取 A 液和 B 液的过程中必须要更换枪头，A 液和 B 液相互污染后会导致 A 液和 B 液逐渐失效，影响后续的使用效果。
2. 各溶液使用后请盖紧瓶盖，特别是 B 液，含有氧化剂，易被还原而失效。
3. ECL 孵育 2 min 后即可检测，并尽量在 30 min 内检测完毕，以免荧光衰减导致实验失败。
4. 过度曝光会导致蛋白间差异消失，请选择合适的曝光时间。
5. NaN_3 （叠氮化钠）能抑制辣根过氧化物酶的活性，二抗孵育过程中应避免使用 NaN_3 。
6. 本产品为高灵敏度的 ECL，检测内参蛋白（如 actin）或其他表达丰度较高的蛋白时，请减少一抗和二抗的浓度与孵育时间，并减少 Western Blot 实验中的蛋白上样量，以免曝光过度，出现杂带，及背景较脏的现象。
7. 为了您的健康，实验过程中请穿好实验服、佩戴乳胶手套和安全眼镜。

三、产品简介。

本产品是超敏型 ECL，Western Blot 实验中可以检测到飞克级浓度的蛋白。

四、特点与优势。

1. 本产品主要用于表达水平较低的蛋白检测，可以检测到飞克级浓度的蛋白。
2. 本产品特异性强，背景干净清晰，对 PVDF 膜和硝酸纤维膜均适用。

五、使用说明 (Western Blot 显影)。

1. Western Blot 实验中孵育完一抗和二抗的 PVDF 膜用 TBST 洗涤 3 次, 备用。
2. Super ECL 工作液配制: 根据 PVDF 膜的大小, 估算需要的 Super ECL 工作液体积, 将试剂盒中的 A 液与 B 液等体积混合, 制备 Super ECL 工作液。
3. Super ECL 工作液孵育。将 PVDF 膜自 TBST 溶液中取出, 用吸水纸吸去多余液体, 置于化学发光仪显影用的底板上, 滴加 Super ECL 工作液, 使其覆盖均匀, 室温孵育 1-2 min。
4. 显影。将载有 PVDF 膜的底板放入化学发光仪, 开启化学发光检测程序, 检测不同时间点的荧光强度。
5. 若利用 X 感光片显影, 则将孵育完 Super ECL 的 PVDF 膜置于新的保鲜膜上, 包裹妥当, 置于暗盒内, 压上 X 感光片, 曝光一段时间后取出 X 光片, 依次放入显影液和定影液, 进行胶片显影处理。

六、效果鉴定。

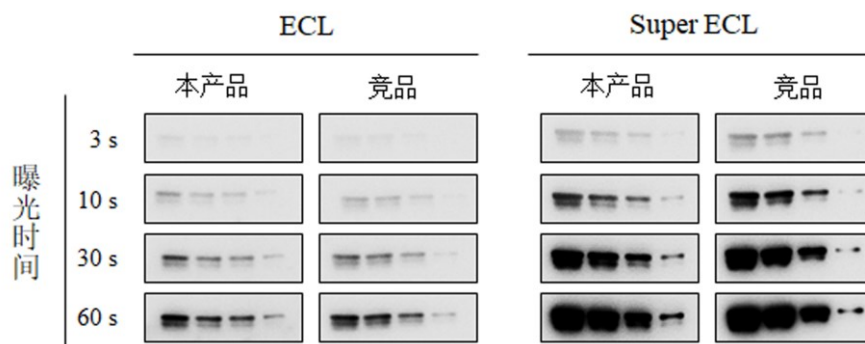


图 1. Super ECL 效果鉴定图。

Western Blot 检测细胞裂解液 (倍比稀释样品) 中的 Actin, 最大上样量 (最左侧样品) 为 5 μ g 蛋白。

七、常见问题与分析。

问题	可能原因	解决方案
蛋白条带太浅，或检测不到	曝光时间偏短	延长曝光时间。
	ECL 效果减弱或失效	吸取 ECL 时若不更换枪尖，易导致 AB 液污染并失效，请更换成新的 ECL
	目的蛋白含量偏低，且 WB 上样量偏低	增加蛋白上样量。
	一抗效价较低	增加一抗浓度，或更换一抗。
	抗体孵育时间偏短	增加一抗或二抗的孵育时间，尤其是室温较低的时候，延长抗体孵育时间可以增加信号强度。
	二抗中有叠氮钠干扰	选择不含叠氮钠的二抗。
蛋白条带太深，背景较脏	曝光时间偏长	缩短曝光时间。
	目的蛋白含量偏高，且 WB 上样量偏高	减少蛋白上样量。
	一抗或二抗效价较高，或孵育时间偏长	降低一抗或二抗的浓度，缩短抗体孵育时间，尤其是室温较高时。
	抗体特异性差	更换一抗及二抗，使用特异性强的抗体。
	封闭不完全	延长封闭时间。
蛋白条带扭曲或不规则	聚丙烯酰胺凝胶质量较差	制备或使用高质量的聚丙烯酰胺凝胶。
	电泳时电压较高	降低电泳电压。