

增强型 ECL 化学发光试剂盒



产品详情

产品货号	产品名称	储存条件	保质期
IM10218	增强型 ECL 化学发光试剂盒	2-8℃	2 年

产品说明:

1. 本产品是基于鲁米诺底物的化学发光试剂盒，能够被辣根过氧化物酶 (HRP) 催化，发出强烈辉光，检测灵敏度达到 pg 级。本试剂盒优化了底物组成，使用了新型高效增强剂，发光强度比传统 ECL 显色液提高了 30-100 倍，并有效地降低了背景。试剂盒使用新的氧化剂代替不稳定的双氧水，提高了试剂盒的稳定性，室温可稳定放置 1 年。工作液被 HRP 催化后，发出特定波长荧光 (400-450nm)，可对 X 光胶片曝光，也可直接使用荧光 CCD 扫描，主要应用于 Western 检测以及化学发光免疫检测系统。
2. 超敏型的灵敏度比增强型高 10 倍以上 (见下图)，对于增强型无法检测的微量样品，可以选择超敏型。



溶液配制:

1. 一抗工作浓度: 0.2-1.0 μ g/ml;
2. HRP 标记二抗工作浓度: 10-500ng/ml, 根据二抗效价调整。
3. 发光检测工作液的配制: Solution I:Solution II=1:1 (10cm² 转印膜使用 1-2ml 工作液)

抗体去除液 (用于膜的再生):

1. 基本型: 0.1M 甘氨酸, HCl 调整 pH 至 2.7
2. 传统型: 2%SDS, 0.1M mercaptoethanol, 50mM Tris-HCl, pH7.0
3. 高效型: 6M GuHCl, 0.2%Nonidet P-40 (NP-40), 0.1M β -mercaptoethanol, 20mM Tris-HCl, pH 7.5

操作步骤 (仅供参考):

根据常规操作转印结束后，进行封闭、一抗孵育、二抗孵育以及必要的洗膜步骤，根据膜的大小，按每 10cm² 膜使用 1-2ml 工作液，按比例吸取等体积溶液 I 和溶液 II 混匀，配制成发光检测工作液。用平头镊子将膜取出，膜的下缘轻轻接触吸水纸，去除膜上多余的液体。用移液

器将工作液加到转印膜上，使其均匀覆盖，室温孵育 1-2 分钟，此步骤可在洁净保鲜膜上或塑料盒中完成。

1. X 光胶片法

(1) 用平头镊子夹起转印膜，膜的下缘轻轻接触吸水纸，去除膜上多余的液体，留下少量工作液，不要让膜完全干燥。膜的蛋白面朝上，包裹于洁净保鲜膜内。轻轻赶出其间的气泡，用小块透明胶带粘住四角，固定在 X 光片暗盒内。

(2) 在暗室中取一张 X 光胶片置于包裹的膜上，合上暗盒，曝光 30 秒至 1 分钟。立即定影、显影，根据曝光强度，调整下一张 X 光胶片的曝光时间。如果背景过高，可以使用两张 X 光胶片同时压片。

2. 荧光拍照法

(1) 如果需要使用 CCD 拍照，可以将膜放置于工作液中，开机后按照使用说明，将转印膜取出，进行拍照。

(2) 可以根据背景情况，调整机器测量参数，提高信噪比。

3. 管式化学发光法

(1) 将鲁米诺的化学辉光检测波长可设定在 420nm 左右，可以选择单点测量，或者取多次平均值。

(2) 按照机器要求，将配制好的工作液加入到样品管中，间隔一定时间测量发光强度，注意鲁米诺系统的发光到达峰值有一定延迟(30-300 秒)，不同样本的测量时间间隔要固定。

(3) HRP 催化鲁米诺发光的体系还受到反应温度以及 pH 的强烈影响，所以工作试剂准备以及发光测量需要考虑到此类因素。

注意事项：

1. 针对含量较高的蛋白(比如内参蛋白)，发光强度较高，可以将工作液用去离子水稀释 2-5 倍，可以节省显色液。
2. 试剂盒 SolutionI 为底物，保存于避光试剂瓶中，SolutionII 为氧化剂。通常取样顺序是先取底物 SolutionI, 换枪头后再取氧化剂 SolutionII。这样可以避免忘记换枪头，造成底物失效。
3. 本试剂盒较为稳定，室温(25℃)可以保存一年以上，但长期不用建议保存在 4℃ 冰箱中，夏季高温可能会造成试剂的分解，降低检测灵敏度。
4. 使用生物素-亲和素系统时，避免使用牛奶封闭，否则可能会造成背景过高。
5. 金属氧化物颗粒可能会造成膜上出现颗粒状斑点，避免使用带有锈迹的剪刀以及镊子，可以使用平头塑料镊子，如果没有，可以在尖头镊子上套上枪头。
6. 叠氮化钠抑制 HRP 的催化能力，在缓冲液中尽量避免使用叠氮化钠作为防腐剂。
7. 封闭、洗膜、孵育等步骤耗时较长，注意膜与塑料界面的摩擦不均匀可能造成部分位置条带消失，可以在保鲜膜中孵育以及封闭，洗膜的塑料盒底面不要有明显凸起，可以通过剪角的方法，区别转印膜有蛋白的一面。
8. 不同转印膜对蛋白的吸附能力不同，硝酸纤维素较软，避免出现折痕；PVDF 膜使用前需要使用甲醇水化均匀。
9. 勿将多张膜置于同一个洗膜盒中洗膜，相互吸附以及摩擦可能留下痕迹。
10. 转印、封闭、孵育都要避免气泡，这是获得完美图片的关键。
11. 部分保鲜膜上有化学发光淬灭剂，注意选择。市售普通保鲜膜可能太薄，容易皱缩，请选择厚度高一点的保鲜膜，其表面应当光滑平整。
12. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗，食品及化妆品等用途。请勿存放于普通住宅区。

13. 为了您的安全和健康，请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作。
 14. 实验结果可由多种因素影响，相关处理只限于产品本身，不涉及其他赔偿。

问题及解决方案：

问题	原因分析	推荐解决方案
胶片无条带显现或者信号较弱	转膜的效率低	用预染色分子量标准来判断，提高转膜效率
	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	X光片洗片以后应当为透明的胶片，如果全黑则说明已经完全曝光了，应当废弃
	定显影液有问题	可以先曝光一张胶片来验证，若有问题及时更换新的定显影液
	反应系统中 HRP 量过多	稀释 HRP 标记物
X光胶片背景脏，或者出现“一片黑”	一抗、二抗浓度太高	降低抗体浓度，延长封闭时间；或将 ECL 工作液用去离子水稀释 2-5 倍后使用
	抗体未清洗干净	增加洗膜次数
条带有空斑	抗原以及二抗的浓度过高	稀释样品重新跑胶，也可以将混合好的显色液冰浴后，加入到膜上，立即快速显色
带型不规则	转膜时有气泡也有可能是转印膜没有水化均匀	转膜时尽量优化条件

免责声明：所有产品仅用作科学研究，不得用于其他用途！本公司将不为任何不正常使用此产品时所发生的意外负责。

北京伊事达科技有限公司

电话：13564444959

官网：www.followme-shop.com

地址：北京市海淀区东北旺西路58号尚科办公社区C区一楼



公众号



客服