

## 特超敏 ECL 化学发光即用型底物（低皮克级）

**产品货号：** AR1197

**产品批号：** 见外包装标签

**产品保存：** 4℃避光保存，一年有效。

**产品规格：** 100ml 工作液（可用于 1000cm<sup>2</sup> 的膜）

溶液 A          50ml

溶液 B          50ml

**产品说明：** 博士德生产的特超敏 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. 与其它同级别化学发光底物相比，性价比非常高。
2. 使用适当的一抗和二抗，可在 NC 膜或 PVDF 膜上检测丰度为低皮克级的蛋白条带。

### 注意事项：

1. 发光工作液应避免强光照射而导致灵敏度降低。
2. NaN<sub>3</sub> 会抑制 HRP 的活性，因此二抗的保存或回收应避免使用 NaN<sub>3</sub>。
3. 为了您的安全，请穿实验服并佩戴一次性手套。

### 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。每平方厘米膜使用 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