

Enhanced ECL Chemiluminescent Substrate Kit

增强型 ECL 化学发光检测试剂盒

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Enhanced ECL Chemiluminescent Substrate Kit	36222ES60	100 mL
增强型 ECL 化学发光检测试剂盒	36222ES76	500 mL

产品描述

增强型 ECL 化学发光检测试剂盒用于检测直接或间接标记辣根过氧化物酶 (HRP) 的抗体及其关联的抗原。其原理是, 蛋白质或核酸在电泳后转移到印迹膜上, 以一抗及 HRP 标记的二抗结合膜上的目的蛋白, 或以 HRP 标记的探针直接或间接结合膜上的核酸。洗膜后用本产品配制的 ECL 工作液, 室温孵育膜数分钟, 将印迹膜用保鲜膜包被粘帖固定于 X 光片曝光暗盒。然后转入暗室将 X 光胶片压在膜上曝光数秒到数小时, 显影定影后蛋白质或核酸条带可清晰显示在 X 光胶片上。

本试剂盒采用了独特的发光底物系统, 降低曝光背景的同时引入新型的氧化剂, 大大提高试剂盒的稳定性, 使其在室温能稳定放置一年。除用于 X 光片, 还可直接使用荧光 CCD 扫描, 主要用于 WB 检测以及化学发光免疫检测系统。

产品组分

组分编号	组分名称	产品编号/规格	
		36222ES60 (100 mL)	36222ES76 (500 mL)
36222-A	A 液	50 mL	250 mL
36222-B	B 液	50 mL	250 mL

运输与保存方法

常温运输。

频繁使用可置于室温保存, 一年稳定; 长期不用, 建议置于 4°C 保存延长效期。【注】: A 液 (36222-A) 需避光保存!

操作方法 (以 X 光胶片为例)

- 执行常规电泳、转膜、HRP 标记抗体或者 HRP 标记核酸探针孵育、洗膜。
【注】: ECL 发光液是 HRP 的显色底物, 因此检测系统最终必须基于 HRP 酶标记抗体或者核酸探针。
- 最后 1 次洗膜的同时, 新鲜配制发光工作液 (推荐 100-200 μ L 发光液/cm²膜): 分别取等体积的 A 液和 B 液, 混匀备用。
【注】: 取 A 液和 B 液一定要用不同的枪头; 另建议立即使用工作液, 室温放置数小时后仍可使用但灵敏度略有降低。
- 用平头镊取出膜, 搭在滤纸上沥干洗液, 勿使膜完全干燥。用移液器将工作液加到膜上, 使之充分接触。室温孵育 1-2 min, 准备立即压片曝光。
- 用平头镊子夹起膜, 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, 不可让膜完全干燥。
- 在 X 光胶片暗盒内表面铺一张面积大于膜的保鲜膜。将印迹膜贴在保鲜膜上, 将保鲜膜折起来完全包裹印迹膜, 去除气泡和褶皱, 可剪去边缘部多余的保鲜膜。用滤纸吸去多余的发光工作液。用胶带将覆盖印迹膜的保鲜膜固定在暗盒内, 蛋白带面向上。
- 暗房内取一张 X 光胶片至于包裹的膜上, 压片, 曝光 30 sec-2 min, 显影定影冲洗。【注】: 曝光时间需根据曝光强度做相应的调整。若是背景过高, 可使用两张 X 光胶片同时压片。

其他曝光方法

如果使用 CCD 拍照: 可以将膜放置于工作液中, 开机后按照使用说明, 将膜取出, 进行拍照。另外, 也可以根据情况, 调整机器测量参数, 提高信噪比。

注意事项

- 1) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 2) 转膜、封闭、孵育都需要避免气泡, 另外戴手套可以避免在膜上留下手印, 保持膜的干净。
- 3) 长时间曝光或蛋白过量, 将加深背景并使条带强弱变化失去线性关系。曝光不足则条带模糊。
- 4) 某些保鲜膜包裹印迹膜时可能会淬灭荧光, 应选择高质量保鲜膜。
- 5) 避免将多张膜置于同一个洗膜盒内洗膜, 相互吸附或摩擦可能造成很深的背景。
- 6) 使用肉眼可见的预染色蛋白 Marker 和荧光-放射自显影曝光标签可精确确定胶片上条带的位置和大小。
- 7) 使用生物素-亲和素系统, 避免使用牛奶封闭, 可能会导致背景过高。
- 8) 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, 建议使用塑料的平头镊子。
- 9) 叠氮化钠 (NaN_3) 能抑制 HRP 活性, 若回收 HRP 标记探针或者抗体应避免使用 NaN_3 , 如必需使用勿超过 0.01%。
- 10) 本品无特殊毒性, 按普通化学品处理。

问题与解决方案

遇到的问题	原因分析	推荐解决方法
胶片无条带显现或者信号较弱	转膜的效率低	提高转膜效率, 用预染 Marker 判断。
	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
X 光片背景脏	反应系统中 HRP 量过多	稀释 HRP 标记物
	一抗二抗浓度太高	降低抗体浓度, 延长封闭时间
	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, 也可将混合好的显色液冰浴后, 加到膜上即刻快速显色。
带型不规则	转膜有气泡或甲醇 (对于 PVDF 膜) 水化不均匀	优化转膜条件。