

产品说明书

产品名称: Super ECL Star (特超敏化学发光检测试剂盒)

产品货号: BN16010

产品内容及规格: 100mL (A液 50 mL + B液 50 mL)

储存条件

4°C 密封避光保存一年, 短期可放置室温。

产品描述

Super ECL Star 最高灵敏度底物是一款具有超高灵敏度的增强型化学发光 (ECL) 底物, 可通过辣根过氧化物酶 (HRP) 实现极低表达或高价值蛋白的免疫印迹检测。Super ECL Star 特超敏发光液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。由于采用了独特的发光底物系统, Super ECL Star 超敏发光液是极度灵敏的荧光 ECL 检测试剂。

Super ECL Star (特超敏) 特点:

1. 具有极高灵敏度和高信噪比, 使用适当的一抗和二抗时, 可在硝化纤维膜或 PVDF 膜上检测极低表达或高价值蛋白的条带;
 2. 长信号持续时间: 优化条件下, 可检测的光信号输出长达 8 h;
 3. 明亮信号—通过胶片或成像系统进行曝光, 易于捕获图像;
 4. 价格经济: 配方经过优化, 可适用于浓度极低的抗体检测
- 10 ng-0.2 µg/mL 一抗 (或 1 mg/mL 的稀释 1: 5,000-1: 100,000)
 - 2 ng-10 ng/mL 二抗 (或 1 mg/mL 的稀释 1: 100,000-1: 500,000)

使用方法

1. 执行常规 SDS-PAGE 电泳、转膜和 Western Blot 步骤,

0.01-0.2 µg/mL 一抗孵育 1 h 或过夜, 洗膜后, 2-10 ng/mL 二抗孵育 30-60 min。

2. Western Blot 最后一次洗膜的同时新鲜配制发光工作液: 分别取等体积的溶液 A 和 B, 放入干净容器中混合。

注: 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。

3. 用镊子取出膜, 搭在滤纸上沥干洗液但勿使膜完全干燥。将膜完全浸入发光工作液 (0.1 mL 发光工作液/cm 膜) 中, 与发光工作液充分接触。室温孵育 3-5 min。

4. 取膜, 弃发光工作液, 用吸水纸略吸去过多的液体。将膜放在两片保鲜膜中间, 随后进行压片检测或成像仪检测。

5. 压片检测: 将膜固定于片夹内, 蛋白带面向上。暗室内压片 1 min, 立即显影定影, 根据结果再调整压片时间。或直接分别压片 30 s、1、3、5 min, 然后一起显影定影观察结果。

6. 成像仪检测: 将膜放置到成像仪内, 参考仪器说明书进行检测。

注意事项

1. 步骤 1~4 可在日光灯下操作, 但发光液暴露于强光下时间过久灵敏度可能略有降低, 移到暗房操作可避免之。戴手套可以避免在膜上留下手印。

2. 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。

3. 发光工作液孵育约 3 min 后膜上的条带发光。强条带发光在暗房中肉眼可见, 低丰度蛋白条带发光较弱甚至肉眼不可见但可使 X 光胶片曝光。不能简单以肉眼观察判断条带发光时间。肉眼不可见的荧光实际上可持续数小时并使 X 光胶片感光, 因而弱带可曝光 1-10 h。如果曝光后条带不佳,

可用洗膜缓冲液洗膜，重新孵育二抗，然后重新用 ECL 发光和曝光。

4. 由于特超敏发光液极其灵敏，强烈推荐大多数进口抗体起始浓度为一抗 1:5000 ~ 1:100,000，二抗 1:100,000 ~ 1:500,000。抗体浓度过高将造成高背景或没有条带，导致失败。

5. 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。

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. NaN_3 能抑制 HRP 活性，回收第二抗体应避免使用 NaN_3 ，如必需使用勿超过 0.01%。

常见问题

问题	可能的原因	解决方案
反向图像 (即白色条带黑色背景)	体系中过多的 HRP	进一步稀释 HRP 结合物
膜上有棕色或黄色条带		
在暗室污点发光		
信号持续时间少于 8 h		
信号微弱或没有	体系中太多的 HRP 耗尽底物，导致信号很快消退	进一步稀释 HRP 结合物
	抗原或抗体量不足	增加抗原或抗体含量
	蛋白转膜效率过低	优化转膜
高背景	体系中过多的 HRP	进一步稀释 HRP 结合物
	封闭不够	优化封闭条件
	封闭液不合适	尝试换另一种封闭液
	洗膜不够	增加洗膜的时间、次数或洗膜液体积
	过度曝光	降低曝光时间
	抗原或抗体浓度过高	降低抗原或抗体浓度
蛋白条带内有斑点	蛋白转膜效率过低	优化转膜程序
	水化膜不均	正确执行制造商的推荐水化膜过程
	膜和膜之间存在气泡	曝光前去除气泡