



eECL Western Blot Kit

高灵敏度化学发光检测试剂盒

Cat. No. CW0049

产品简介

高灵敏度化学发光检测试剂盒是免疫印迹实验中与辣根过氧化物酶（HRP）配套使用的高灵敏度增强型检测试剂盒。该产品基于新一代增强型化学发光底物研制而成，在HRP的催化下发生化学反应而发光，可用于检测固定在膜上的蛋白质等生物大分子。其高灵敏度能够检测pg级别的抗原，发光信号强烈持久，可以使用X-光胶片曝光或者化学发光成像仪进行检测。

保存条件

2-8°C，避光保存

产品内容

Component	CW0049S 50 mL	CW0049M 250 mL
eECL-A (Luminol Enhancer)	25 mL	125 mL
eECL-B (Peroxide)	25 mL	125 mL

注意事项

1. 在与膜发生接触过程中，请佩戴手套且使用干净镊子等洁净器材，避免蛋白污染及高背景。
2. 避光条件下，配制好的化学发光检测底物工作液可在室温下稳定保存8小时。阳光或其他强光会影响工作液，故应避免强光长时间的照射。正常实验室灯光短时间照射不影响工作液的使用。
3. 康为世纪提供多种蛋白转移用膜、封闭液、一抗、酶标二抗、缓冲液等，详情请查询公司网站。

操作步骤

1. 二抗孵育完毕后，将印迹膜充分洗涤。
2. 根据需求量，将eECL-A和eECL-B按照1: 1的比例等体积混合，配制为化学发光检测底物工作液（一张8 cm×6 cm的膜大约使用1 mL工作液）。
3. 弃去洗涤缓冲液，将发光底物工作液滴加在印迹膜上，确保工作液覆盖整张膜，室温孵育3-5分钟。
4. 用移液器吸去多余发光底物工作液，将印迹膜置于两层干净的塑料薄膜之间，此过程应小心完成，避免膜与膜之间产生气泡。
5. 在暗室内进行X-光胶片曝光，或将膜放置到化学发光成像仪内，按照仪器说明书进行检测。

问题及解决方案

问题	可能原因	解决方法
胶片反相(白色条带,黑色背景)	系统中HRP过量	稀释HRP标记物至少10倍以上
膜上出现棕色或黄色条带		
暗室中看到强烈发光		
发光信号持续时间过短		
信号较弱或者无信号	发光反应系统中 HRP过多,消耗底物过快,引起信号迅速降低	稀释HRP标记物至少10倍以上
	抗原/抗体量不够	增加抗原/抗体使用量
	蛋白转移率低	优化转移系统
高背景	系统中HRP过量	稀释HRP标记物至少10倍以上
	封闭不足	优化封闭程序
	封闭试剂选择不当	选择另一种封闭试剂
	冲洗不充分	增加冲洗时间,次数
	曝光过度	减少曝光时间
	抗原/抗体浓度过高	降低抗原/抗体使用浓度
蛋白条带为点状	蛋白转移失败	优化转移过程
	膜未平衡	按照说明书处理膜
	胶片与膜之间有气泡	曝光前去除所有气泡
出现非特异条带 (高背景、信号维持时间较短)	系统中HRP过多	稀释HRP标记物
出现非特异条带 (背景干净信号维持时间正常)	一抗用量过多	进一步稀释一抗
	SDS导致非特异结合	在实验过程中避免使用SDS

Super ECL Kit

超敏化学发光检测试剂盒

Cat. No. CW0049P

产品简介

ECL 化学发光超敏显色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。其原理是以辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的抗体直接或间接结合膜上的目的蛋白质，在洗膜后加入本试剂盒配制的ECL工作液，即可由HRP催化发出荧光。

本产品为CW0049增强版，较CW0049的检测速度更快，灵敏度更高，最低检测限可达到中飞克级，在Western blot实验中，一抗 (1 mg/mL) 储存液可稀释1:1,000 至 1:50,000 倍，二抗 (1 mg/mL) 储存液可稀释1:50,000至1:200,000倍。发光信号持久，结果可以通过X光胶片曝光或者其他适当荧光成像设备进行检测。

保存条件

2-8°C避光保存

产品内容

Component	CW0049PS 50 mL	CW0049PM 250 mL
super ECL-A (Luminol Super)	25 mL	125 mL
super ECL-B (Peroxide)	25 mL	125 mL

注意事项

1. 本ECL试剂盒灵敏度高，需要优化好上样量、一抗、二抗浓度和稀释液、印迹膜及封闭试剂，并按照蛋白表达丰度，参考推荐的抗体稀释比例，来获得最佳实验结果。
2. 如果印迹膜上条带过亮时，建议使用我司生产的膜再生液 (CW0056) 去除抗体后重新封闭孵育，并提高一抗二抗稀释比例。如果条带过暗也可将二抗稀释比例降低至1:5000至1:10,000倍，以达到最佳效果。
3. 本试剂盒A液和B液不可以相互污染，否则会降低产品的使用效果。
4. 发光强度会随时间缓慢减弱，建议在两小时内完成实验。
5. 孵育二抗后，洗膜缓冲液应避免使用叠氮钠，叠氮钠是HPR的抑制剂。
6. 为了您的安全和健康，请穿戴实验服并戴一次性手套操作。

操作流程

1. 二抗孵育完毕后，将印迹膜充分洗涤。
2. 根据需要量，将eECL-A和eECL-B按照1: 1的比例等体积混合，配制为化学发光检测底物工作液（一张8 cm×6 cm的膜大约使用1 mL工作液）。
3. 弃去洗涤缓冲液，将结合有蛋白的一面朝上，将发光底物工作液滴加在印迹膜上，确保工作液覆盖整张膜，室温孵育1-2分钟。
4. 用移液器吸去多余ECL工作液，将印迹膜置于两层干净的塑料薄膜之间，此过程应小心完成，避免膜与膜之间产生气泡。
5. 在暗室内进行X-光胶片曝光，或将膜放置到化学发光成像仪内，按照仪器说明书进行检测。

问题及解决方案

问题	可能原因	解决方法
胶片反相(白色条带,黑色背景)	系统中HRP过量	稀释HRP标记物至少10倍以上
膜上出现棕色或黄色条带		
暗室中看到强烈发光		
发光信号持续时间过短		
信号较弱或者无信号	发光反应系统中 HRP过多,消耗底物过快,引起信号迅速降低	稀释HRP标记物至少10倍以上
	抗原/抗体量不够	增加抗原/抗体使用量
	蛋白转移率低	优化转移系统
高背景	系统中HRP过量	稀释HRP标记物至少10倍以上
	封闭不足	优化封闭程序
	封闭试剂选择不当	选择另一种封闭试剂
	冲洗不充分	增加冲洗时间,次数
	曝光过度	减少曝光时间
	抗原/抗体浓度过高	降低抗原/抗体使用浓度
蛋白条带为点状	蛋白转移失败	优化转移过程
	膜不平衡	按照说明书处理膜
	胶片与膜之间有气泡	曝光前去除所有气泡
出现非特异条带 (高背景、信号维持时间较短)	系统中HRP过多	稀释HRP标记物
出现非特异条带 (背景干净信号维持时间正常)	一抗用量过多	进一步稀释一抗
	SDS导致非特异结合	在实验过程中避免使用SDS