



Ultra ECL Kit

极敏化学发光检测试剂盒

Cat. No. CW0064

产品简介

本试剂盒是一款以鲁米诺（Luminol）作为化学发光底物的低飞克极敏的ECL化学发光检测试剂盒。其工作原理是：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，在洗膜后加入ECL工作液，在其碱性环境下，鲁米诺由HRP催化发光，然后通过X胶片或者化学发光成像系统来检测结果。

本试剂盒使用了优化的增强剂和氧化剂，提高了试剂盒的稳定性和检测灵敏度，对抗原的最低检测限可达到低飞克级。在Western Blot实验中，一抗（1 mg/mL）储存液可稀释1:5,000至1:100,000倍，二抗（1 mg/mL）储存液可稀释 1:100,000 至 1:500,000 倍，发光信号强且较持久。本试剂盒特别适用于丰度较低或痕量目的蛋白的检测，对于常规的WB或者丰度较高的蛋白检测，可选择使用中飞克级超敏化学发光检测试剂盒（CW0049P）。

保存条件

2-8°C避光保存

产品内容

Component	CW0064T 10 mL	CW0064S 50 mL	CW0064M 250 mL
Ultra ECL-A (Luminol)	5 mL	25 mL	125 mL
Ultra ECL-B (Peroxide)	5 mL	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HRP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ultra ECL-A和ultra ECL-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

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途