



## 灵敏 ECL 化学发光试剂盒

### 包装清单

Cat No.	组分	包装规格-100mL
MCK-0023	Solution A	50 mL
	Solution B	50 mL
	说明书	1 份

### 产品简介

灵敏 ECL 化学发光试剂盒用于检测辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的抗体及其关联的抗原。HRP 标记的抗体直接或间接结合膜上的目的蛋白，在洗膜后加入本试剂盒配制的 ECL 工作液，即可由 HRP 催化产生化学发光，结果可通过 X 光胶片压片或 CCD 成像系统进行检测。本产品配方独特，灵敏度高，对抗原的最低检测限度可达低皮克级别，1-2 小时内检测信号仍保持稳定。本产品配方经过优化，适用于极低浓度的抗体检测，在 WB 实验中，一抗(1mg/mL)储存液可稀释 1:1,000-1:4,000 倍 (终浓度约 0.25-1 $\mu$ g/mL)，二抗(1mg/mL)储存液可稀释 1:5,000-1:10,000 倍(终浓度约 0.1-0.2 $\mu$ g/mL)。持久的发光信号，极高的信噪比，保证了最佳的检测效果。

### 保存条件

4° C 避光保存，有效期 1 年。

### 注意事项

1. 为获得最佳实验结果，请务必优化实验条件，包括：样品量、凝胶类型、转膜方法、膜类型、封闭试剂、洗涤缓冲液、一抗和二抗浓度以及孵育时间等。
2. 实验过程中请确保膜不会变干。
3. 为获得最佳实验结果，请在孵育步骤中使用摇床。
4. A 液和 B 液在吸取过程中必须更换枪头，A 液和 B 液相互污染后会导致 A 液或 B 液逐渐失效，影响后续的使用效果。
5. 实验室常见照明不会损害 ECL 工作液，但曝露于日光或强光下时间过久会降低试剂灵敏度，移至暗室操作即可。
6. 叠氮钠( $\text{NaN}_3$ )会抑制 HRP 活性，应避免在缓冲液中使用  $\text{NaN}_3$ ，如必须使用，勿超过 0.01%。
7. 接触膜时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。
8. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
9. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 使用说明

1. 进行常规 WB 操作：电泳、转膜、封闭、HRP 标记抗体孵育、洗膜。一抗(0.25-1  $\mu$ g/mL)室温孵育 1 h 或 4°C 过夜，洗膜后，二抗(0.1-0.2  $\mu$ g/mL)室温孵育 30-60 min。
2. 配制 ECL 工作液：在使用前等量混合适量 A 液和 B 液，混合后尽快使用。
3. Western 二抗孵育后，进行数次洗涤，用平头镊子将印迹膜取出，沥干膜上的洗膜液，将结合有蛋白的一面朝上，放置于洁净保鲜膜上。
4. 根据印迹膜的大小，按 0.125 mL 工作液/cm<sup>2</sup> 膜的比例滴加 ECL 工作液到膜上，确保工作液均匀覆盖在整张膜上，室温孵育 3-5 min。
5. 弃去印迹膜上的 ECL 工作液，用吸水纸吸去过多的液体。将印迹膜放在两片保鲜膜中间，随后进行压片检测或成像仪检测。
6. 压片检测：将印迹膜固定于片夹内。暗室内压片 1 min，立即显影定影，根据结果再调整压片时间。或直接压片 0.5、1、3、5 min，然后一起显影定影观察结果。
7. 成像仪检测：将印迹膜放置到成像仪内，参考仪器说明书进行检测。