

Meilunbio[®]低飞克极超敏 ECL 发光液

产品编号：MA0187 规格：10ml / 100ml / 500ml

产品内容

| 产品组成 | MA0187-1 | MA0187-2 | MA0187-3 |
|---|----------|----------|----------|
| Meilunbio [®] 低飞克极超敏 ECL 发光液 A | 5ml | 50ml | 250ml |
| Meilunbio [®] 低飞克极超敏 ECL 发光液 B | 5ml | 50ml | 250ml |
| 说明书 | 1 份 | 1 份 | 1 份 |

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超敏的 ECL 化学发光试剂盒。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（1mg/mL）储存液可稀释 1:5,000 至 1:100,000 倍，二抗（1mg/mL）储存液可稀释 1:100,000 至 1:500,000 倍，发光信号强且较持久。Meilunbio[®]低飞克极超敏 ECL 发光液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 Meilunbio[®]飞克特超敏 ECL 发光液（美仑货号：MA0186）。

使用说明

1. 进行常规Western Blot，可参考美仑官网技术分享。

【注】为得到理想结果，需要优化Western Blot所涉及各个实验环节，包括样品上样量、凝胶类型、转膜方法、膜类型、封闭试剂、一抗/二抗浓度及相应孵育时间等。请尽量提供足量的孵育试剂，以避免膜干燥。

2. 制备ECL工作液：按照1:1的比例等体积混合适量A液和B液。

【注】工作液最好在临近使用前配制，推荐使用剂量：0.1ml工作液/cm²膜。吸取A液和B液过程中请注意更换枪头，避免交叉污染。ECL工作液可暂时放置4℃保存，请尽量于6小时内使用。

3. 用平头镊取出洗好的膜，在滤纸上沥干膜上洗膜液，将结合有蛋白的一面朝上，放置于洁净保鲜膜上。

4. 滴加上配好的ECL工作液，孵育时确保工作液覆盖整张膜，室温孵育1-2min。

5. 用平头镊夹起印迹膜，膜下缘轻轻接触吸水纸，吸去膜上多余ECL工作液，将一张洁净的保鲜膜平整的包裹在印迹膜上，结合有蛋白的一面朝上。

【注】请残留少量工作液，不可让膜完全干燥。

6. 将处理好的印迹膜置于X光片盒中，在暗室中取一张胶片小心置于膜上，曝光时间取决于膜上的发光强度，曝光后立即显影定影。也可直接将处理好的印迹膜放置到化学发光成像仪内，按仪器说明书进行检测。



保存条件

2-8℃避光保存，自生产之日起12个月有效。

注意事项

1. 本 ECL 试剂盒灵敏度高，需要优化好样品上样量、凝胶类型、转膜方法、膜类型、封闭试剂、一抗/二抗浓度及相应孵育时间等，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，建议使用我公司生产的膜再生液（MA0181）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. 各组分使用后，请拧紧瓶盖，以防污染。
5. ECL 工作液孵育时间不宜过长，延长孵育时间不会增加灵敏度，有时还会导致曝光条带异常。
6. 若想节约试剂，可适当将膜剪小，但请勿稀释发光液，因为发光过程的本质是酶促反应，使用过少的底物不利反应进行，也会导致膜上条带曝光不均和灵敏度明显降低。
7. 发光强度会随时间缓慢减弱，建议在曝光后两小时内完成实验。
8. 孵育二抗后，洗膜缓冲液应避免使用叠氮钠，因为叠氮钠是 HRP 的抑制剂。
9. 某些保鲜膜包裹印迹膜时可能会造成淬灭荧光，请选择高质量保鲜膜。
10. 为了您的安全和健康，请穿戴实验服并戴一次性手套操作。



常见问题解决方案

| 遇到的问题 | 原因分析 | 推荐解决方法 |
|---------------|-------------------|--|
| 胶片出现反影 | 反应系统中 HRP 量过多 | 稀释 HRP 标记物 |
| 膜上出现棕色或黄色条带 | | |
| 暗室中观察到强烈发光 | | |
| 条带有空斑 | | |
| 发光信号持续时间短 | 保鲜膜、显影液或定影液污染 | 使用优质试剂耗材，规范操作，避免污染 |
| | 反应系统中 HRP 量过少 | 增加 HRP 标记物 |
| 胶片无条带显现或者信号较弱 | 蛋白质表达量低或降解 | 适当增加上样量或提高抗体的使用浓度 |
| | 转膜的效率低 | 适当增加转膜时间或提高转膜效率，用预染 Marker 判断 |
| | 膜的选择不合适 | 小蛋白更适合于 PVDF 膜 |
| | 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 |
| | 曝光时间过短 | 适当的延长曝光时间 |
| 高背景 | 反应系统中 HRP 量过多 | 稀释 HRP 标记物，延长封闭时间 |
| | 抗体未清洗干净 | 增加洗膜次数 |
| | 封闭不完全 | 优化封闭条件 |
| | 使用错误的封闭剂 | 使用其他的封闭剂 |
| | 过度曝光 | 降低曝光时间 |
| 非特异性条带 | 一抗用量过多或者特异性较差 | 减少一抗稀释比例或者更换一抗 |
| | SDS 引起蛋白非特异性结合 | 实验流程中避免使用 SDS |
| 条带弥散或形状怪异 | 制胶问题 | 配胶时要保证充分混匀，均匀凝胶，并用针头将胶孔拨正吹出孔内的气泡 |
| | 上样量大 | 上样时需保证样品量一致且适当，并且含较低的盐离子浓度 |
| | 电泳时电压、电流过高导致电泳液过热 | 建议使用合适的电泳条件并保持低温 |
| ECL 发光液失效 | 过了保质期 | 建议更换新的 ECL 发光液 |
| | 未避光保存 | 发光液中鲁米诺等成分需避光保存，否则容易失活 |
| | AB 液交叉污染 | 规范实验操作，吸取不同的液体需更换枪头 |

