

Meilunbio® FGSuper Sensitive ECL

Luminescence Reagent

Meilunbio®飞克特超敏 ECL 液

产品编号: MA0186 规格: 100ml 500ml

产品内容

产品组成	MA0186-100ml	MA0186-500ml
Meilunbio®飞克特超敏 ECL 液 A	50 ml	250 ml
Meilunbio®飞克特超敏 ECL 液 B	50 ml	250 ml

保存方法

2-8℃避光保存，一年有效。

产品简介

本试剂盒应用于免疫印迹实验，以化学发光法检测蛋白质。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。

本产品对抗原的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（1mg/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。

操作步骤

1. 进行常规Western Blot，可参考美仑官网技术分享。
2. ECL工作液按照1:1的比例等体积混合适量A液和B液制备。
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。
3. 用镊子取出洗好的膜，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. 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. 弃去印迹膜上ECL工作液，将一张洁净的保鲜膜平整的铺在印迹膜上。
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，或将印迹膜放置到荧光成像仪内，按仪器说明书进行检测。

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. 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。

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	养成良好的实验习惯
	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	转膜的效率低	提高转膜效率，用预染 Marker 判断。
	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
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