

# 特超敏 ECL 发光底物检测试剂盒

货号：PMK003

保存：4℃密封避光保存一年以上。短期可放置室温。

规格：50ml+50ml/250ml+250ml

用途：用于 HRP 标记抗体的 Western Blot 和 HRP 标记探针的核酸杂交。

## 产品简介：

特超敏ECL发光底物检测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，是一种可广泛应用于免疫学实验的化学发光试剂。由于采用了独特的发光底物系统和高灵敏度荧光ECL发光试剂，特超敏ECL发光底物检测试剂盒是目前最灵敏的商业化荧光ECL检测试剂之一，灵敏度高于常规超敏ECL检测试剂数十倍乃至数百倍：

- (1) 具有极高灵敏度和高信噪比，可检测10~100fg微量抗原；
- (2) 发光迅速且稳定，荧光可使X光胶片感光达12小时以上，特别适用于痕量蛋白或核酸检测；
- (3) 可使用更高的抗体稀释倍数(1:5000~1:20000)，极其节省抗体。
- (4) 优异的性价比，更高的性能，更低的价格。

## 产品内容：

| 组分         | PMK003-100 | PMK003-500 |
|------------|------------|------------|
| SuperECLA  | 50ml       | 250ml      |
| SuperECL B | 50ml       | 250ml      |

## 使用方法：

- (1) 使用合适的方法进行Western Blot，直至用PBST洗涤二抗。注意用HRP标记IgG或用一抗-链亲和素-生物素-HRP夹心法。
- (2) Western Blot最后一次洗膜的同时新鲜配制发光工作液：分别取等体积的溶液 A 和 B，放入干净容器中混合备用。工作液宜在临检测前配制，室温放置数小时后仍可使用但灵敏度略有降低。
- (3) 用WB专用镊子取出膜，搭在滤纸上沥干洗液但勿使膜完全干燥。将膜置于一洁净保鲜膜上，然后使其完全浸入新配制的发光工作液(0.1mL 发光工作液/cm<sup>2</sup> 膜)中充分接触，室温孵育 2 分钟。孵育时间过长不会增加灵敏度，有时还会导致曝光条带异常。发光过程的本质是酶促反应，使用过少的发光工作液不利反应进行，也会导致膜上条带曝光不均和明显的灵敏度降低，为达节约目的可将膜剪小但勿降低发光液用量。
- (4) 用WB专用镊子夹起膜，搭在滤纸上沥干发光工作液，但勿洗去发光液。将膜放在两片保鲜膜中间，随后进行压片检测或化学发光成像仪检测。
- (5) 压片检测：将Western Blot膜贴在保鲜膜上，然后将保鲜膜折起来完全包裹Western Blot膜，去除气泡和皱褶，可剪去边缘部多余的保鲜膜。用滤纸吸去多余的发光工作液。将覆盖Western Blot膜的保鲜膜固定在暗盒内，蛋白带面向上。打开X光胶片暗盒，暗房内压X光胶片，分别曝光不同的时间如数秒到数分钟，然后定影显影冲洗。最后根据结果再调整压片时间得到满意的压片结果。
- (6) 化学发光成像仪检测：将膜放置到化学发光成像仪内，参考仪器说明书进行检测。

## 产品说明书

### 注意事项:

- (1) 各溶液使用完后, 请盖紧瓶盖以防失效。特别是B液, 含有氧化剂, 比较容易被还原而失效。
- (2) A液和B液在吸取过程中必须要更换枪头, A液和 B液相互污染后会导致A液和B液逐渐失效, 影响后续的使用效果。
- (3) 步骤1~4可在日光灯下操作; 但发光液暴露于强光下时间过久灵敏度可能略有降低, 移到暗房操作可避免之。
- (4) 长时间曝光或蛋白过量, 将加深背景并使条带强弱变化失去线性关系; 曝光不足则条带模糊。
- (5) 发光工作液孵育约2分钟后膜上的条带发光。强条带发光在暗房中肉眼可见, 低丰度蛋白条带发光较弱甚至肉眼不可见但可使 X光胶片曝光。不能简单以肉眼观察判断条带发光时间, 肉眼不可见的荧光实际上可持续数小时并使 X光胶片感光, 因而弱带可曝光1-10小时。
- (6) 由于特超敏发光液极其灵敏, 强烈推荐大多数进口抗体起始浓度为一抗1:2000~1:10000, 二抗1:5000~1:20000。抗体浓度过高将造成高背景或没有条带导致失败。
- (7) 当发现特超敏ECL发光底物检测试剂盒(PMK003)的检测灵敏度过高而影响检测结果时, 可以选择检测灵敏度较低一些的超敏ECL发光底物检测试剂盒(PMK0448), 或者减少样品、一抗或二抗的用量。
- (8) 某些保鲜膜包裹印迹膜时可能会淬灭荧光, 应选择高质量保鲜膜。尽量使用WB专用镊子或者塑料镊子, 金属镊子可能会造成淬灭荧光。
- (9)  $\text{NaN}_3$ 能抑制HRP活性, 因此缓冲液中应避免使用 $\text{NaN}_3$ 做为防腐剂, 如必需使用勿超过 0.01%。
- (10) 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。
- (11) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作, 且戴手套可以避免在印记膜上留下手印。

### 相关产品:

PMK1300 考马斯亮蓝蛋白胶快速染色液

PMK053 GAPDH mAb-HRP conjugated

PMK0312 抗体稀释液

PMK1700 PBST 缓冲液

PMK1020 IPTG 溶液(50mg/ml)

PMK1010 30%丙烯酰胺(29:1)

PMK1070 5×Tris-甘氨酸电泳缓冲液

