特超敏型ECL Plus 化学发光检测试剂盒

IM102

产品概述 Product Overview

本试剂盒基于辣根过氧化物酶（HRP）催化化学发光反应原理，通过电泳依据电荷和分子量差异分离目标蛋白，并转移至印迹膜（如 NC 膜或 PVDF 膜）上，适用于低飞克水平蛋白分子检测。检测蛋白时，利用一抗和 HRP 标记二抗进行特异性免疫结合；检测核酸则采用 HRP 标记探针杂交目标序列。加入发光底物后，HRP 催化反应生成激发态中间体，其退激时释放光子，产生化学发光信号。通过成像系统捕获光信号，可定性及定量分析目标分子。

产品组成 Product Composition

组　分	IM102 100mL
特超敏型 ECL Plus 化学发光检测 A 液	50 mL
特超敏型 ECL Plus 化学发光检测 B 液	50 mL

注意事项 Precautions

1. ECL 底物和发光液应避免暴露于强光下，长时间照射会造成灵敏度降低。
2. 金属离子被氧化会使膜上产生颗粒状斑点，可使用塑料平头镊子，避免使用生锈的金属工具。
3. ECL 两种组分使用过程中为避免交叉污染导致失效，请务必更换枪头。
4. 长时间曝光会加深背景；蛋白过量，会使条带强弱变化失去线性关系；曝光不足，则条带模糊或较浅。
5. 选择保鲜膜包裹印迹膜时，请使用高质量保鲜膜，避免淬灭荧光或造成污染。
6. 利用预染 Marker 肉眼可见的彩色条带，结合荧光-放射自显影曝光标签，能精准确定胶片上条带位置与大小。
7. 叠氮化钠是 HRP 酶抑制剂，会影响反应体系中酶活性，抗体或探针回收时缓冲液中防腐剂应避免使用叠氮化钠。
8. 曝光后条带不够清晰，可将膜进行清洗，重新孵育二抗，用 ECL 再次曝光。
9. 印迹膜要保持湿润状态，适量的封闭液和洗涤液可以降低非特异性信号的产生。
10. ECL 工作液避免隔天使用，否则会降低实验结果准确性。
11. 本产品仅限于科研用途并且不得存放于普通住宅内。
12. 为了您的安全和健康，请遵循您所在常规实验室安全规定。

操作流程 Operation Process

1. 抗体孵育：进行常规的 SDS - PAGE 电泳和转膜步骤，一抗浓度控制在 0.25 ~ 1 μg/mL，室温孵育 1 h 或 4 ℃过夜，孵育后进行洗膜，二抗浓度为 0.1 ~ 0.2 μg/mL，孵育时间 30 ~ 60 min (检测体系必须基于 HRP 酶标抗体) 。
2. 制备 ECL 工作液：孵育后最后一次洗膜时，临用现配 ECL 工作液，分别量取等体积 A 液和 B 液，混合均匀。

注：室温放置将导致发光工作液灵敏度降低，建议临用现配。

3. ECL 工作液与膜共孵育：有两种操作方式可供选择。

1) 泡染法：用镊子取出膜，沥干洗液，但要保持膜的湿润。将膜完全浸入发光液工作液中，与发光工作液充分接触，室温孵育 3 min。(推荐采用此操作方式)

2). 点染法：用镊子取出膜，沥干洗液，但要保持膜的湿润。将发光工作液缓慢滴加在膜上 (125 μl ECL 工作液/cm^2 膜) ，要求 ECL 工作液完全覆盖膜且分布均匀，室温孵育 3 min。

4. 成像仪检测：用平头镊子夹起膜，沥干多余的 ECL 工作液，但同样要保持湿润，然后确保含蛋白的一面朝上平稳地放置在成像仪的检测板上，即可使用成像仪按照仪器的操作说明进行检测。
5. 压片检测：用平头镊子夹起膜，沥干多余的 ECL 工作液，但同样要保持湿润，然后确保含蛋白的一面朝上平稳地放置于保鲜膜上，用吸水纸吸去多余的 ECL 工作液 (过程中不能碰触到膜) ，将膜小心的包在两层保鲜膜中间，用片夹固定。将固定好的膜在暗室环境中先压片 1 min，随后立即显影，定影初步结果，根据初步结果进行适当调整后续压片时间。或分别压片 0.5、1、3、5 min，然后一起显影观察结果。

保存条件 Storage Conditions

4 ℃避光冷藏，有效期12个月；冰袋运输。