

## M5 eECL Western Blot Kit

### 高灵敏度化学发光检测试剂盒使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 eECL Western Blot Kit	50ml	MF078-01
M5 eECL Western Blot Kit	250ml	MF078-05

#### 【储存条件】

2-8°C，避光保存。

#### 【产品简介】

高灵敏度化学发光检测试剂盒是免疫印迹实验中与辣根过氧化物酶（HRP）配套使用的高灵敏增强型检测试剂盒。该产品基于新一代增强型化学发光底物研制而成，在 HRP 的催化下发生化学反应而发光，可用于检测固定在膜上的蛋白质等生物大分子。其高灵敏度能够检测 pg 级别的抗原，发光信号强烈持久，可以使用 X-光胶片曝光或者化学发光成像仪进行检测。

#### 【产品组分】

	MF078-01	MF078-05
eECL-A (Luminol Enhancer)	25ml	125ml
eECL-B (Peroxide)	25ml	125ml

#### 【注意事项】

1. 在与膜发生接触过程中，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。
2. 避光条件下，配制好的化学发光检测底物工作液可在室温下稳定保存 8 小时。阳光或其他强光会影响工作液，故应避免强光长时间的照射。正常实验室灯光短时间照射不影响工作液的使用。
3. 聚合美提供多种蛋白转移膜、封闭液、一抗、酶标二抗、缓冲液等，详情请查询公司网站。

#### 【操作步骤】

1. 二抗孵育完毕后，将印迹膜充分洗涤。
2. 根据需要量，将 eECL-A 和 eECL-B 按照 1: 1 的比例等体积混合，配制为化学发光检测底物工作液（一张 8 cm×6 cm 的膜大约使用 1 ml 工作液）。
3. 弃去洗涤缓冲液，将发光底物工作液滴加在印迹膜上，确保工作液覆盖整张膜，室温孵育 3-5 分钟。
4. 用移液器吸去多余发光底物工作液，将印迹膜置于两层干净的塑料薄膜之间，此过程应小心完成，避免膜与膜之间产生气泡。
5. 在暗室内进行 X-光胶片曝光，或将膜放置到化学发光成像仪内，按照仪器说明书进行检测。

**【常见问题及解决方案】**

问题	可能原因	解决方法
胶片反相（白色条带，黑色背景）	系统中 HRP 过量	稀释 HRP 标记物至少 10 倍以上
膜上出现棕色或者黄色条带		
暗室中看到强烈发光		
发光信号持续时间过短		
信号较弱或者无信号	发光反应系统中 HRP 过多，消耗底物过快，引起信号迅速降低	稀释 HRP 标记物至少 10 倍以上
	抗原/抗体量不够	增加抗原/抗体使用量
	蛋白转移率低	优化转移系统
高背景	系统中 HRP 过量	稀释 HRP 标记物至少 10 倍以上
	封闭不足	优化封闭程序
	封闭试剂选择不当	选择另一种封闭试剂
	冲洗不充分	增加冲洗时间，次数
	曝光过度	减少曝光时间
	抗原/抗体浓度过高	降低抗原/抗体使用浓度
蛋白条带为点状	蛋白转移失败	优化转移过程
	膜未平衡	按照说明书处理膜
	胶片与膜之间有气泡	曝光前去除所有气泡
出现非特异条带（高背景、信号维持时间较短）	系统中 HRP 过多	稀释 HRP 标记物
出现非特异条带（背景干净信号维持时间正常）	一抗用量过多	进一步稀释一抗
	SDS 导致非特异结合	在实验过程中避免使用 SDS


**【备注】**

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。