

M5 Hiper ECL Western HRP Substrate

超强 ECL 发光液使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 Hiper ECL Western HRP Substrate	100ml	MF074-01
M5 Hiper ECL Western HRP Substrate	500ml	MF074-05

【储存条件】 2-8°C, 避光保存。

【产品简介】

M5 Hiper ECL Western HRP Substrate 超强 ECL 发光液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。其高灵敏度能够轻松检测 **pg 级别 (甚至 fg 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】

	MF074-01	MF074-05
M5 Hiper ECL-A (Luminol Enhancer)	50ml	250ml
M5 Hiper ECL-B (Peroxide)	50ml	250ml

【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。

注意: 本产品为市面上最灵敏 ECL 发光液, 请摸索最佳的一抗和二抗稀释比例, 以免发生过爆现象!

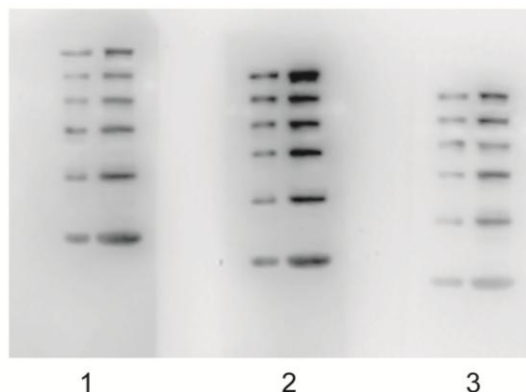
【操作步骤】

1. 将 HRP 标记的抗体孵育结束后的蛋白印迹膜漂洗干净。
2. 将 M5 Hiper ECL-A 液和 M5 Hiper ECL-B 液按等体积的比例混匀, 即得到 ECL 工作液 (现配现用), 每 5 cm x 8 cm 的印迹膜约需要 3-5 ml ECL 工作液。

注: 吸取 A 液和 B 液的吸头一定要分开。

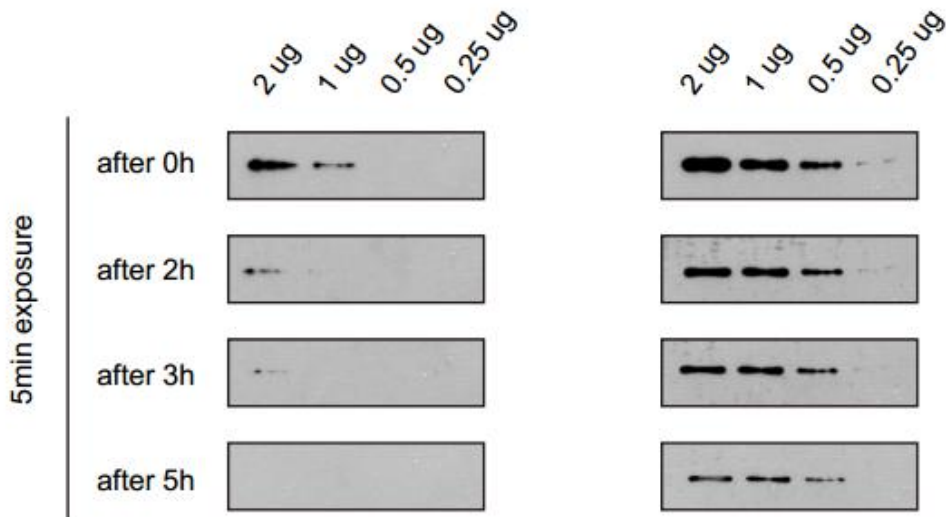
3. 将印迹膜表面的液体在吸水纸上吸干, 平铺在塑料膜上。
4. 将配好的 ECL 工作液均匀的滴在印迹膜表面, 反应 2 分钟左右后, 去除 ECL 工作液。
5. 将印迹膜夹在两层塑料膜之间, 进行 X 光压片或者放入发光成像仪内拍照。

【效果比较】



图一

- 1、某著名进口品牌 M 公司 ECL 发光液曝光结果图
- 2、M5 Hiper ECL Western HRP Substrate (MF074) 曝光结果图
- 3、某国产知名品牌 T 公司 ECL 发光液曝光结果图。



图二

左边某著名进口品牌 Th 公司 ECL 发光液曝光结果图

右边 M5 Hiper ECL Western HRP Substrate (MF074) 曝光结果图

【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 (加大 2 倍一抗的稀释度, 加大 2 倍二抗的稀释度)
条带中出现白点或者白色空泡		
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
蛋白条带为点状	抗原/抗体浓度过高	降低抗原/抗体使用浓度
	蛋白转移失败	优化转移过程
	膜未平衡	按照说明书处理膜
出现非特异条带 (高背景、信号维持时间较短)	胶片与膜之间有气泡	曝光前去除所有气泡
	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。