

## AFT ECL Western HRP Substrate 超敏 ECL 发光液 (pg 级)

产品名称	单位	货号
AFT ECL Western HRP Substrate	100ml	AFT2046-01

**【储存条件】** 2-8°C, 避光保存。

### 【产品简介】

AFT ECL Western HRP Substrate 超敏 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】

AFT ECL-A (Luminol Enhancer)	50ml
AFT ECL-B (Peroxide)	50ml

### 【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. AFT 提供多种蛋白转移用膜、封闭液、一抗、酶标二抗、缓冲液等, 详情请查询公司网站。

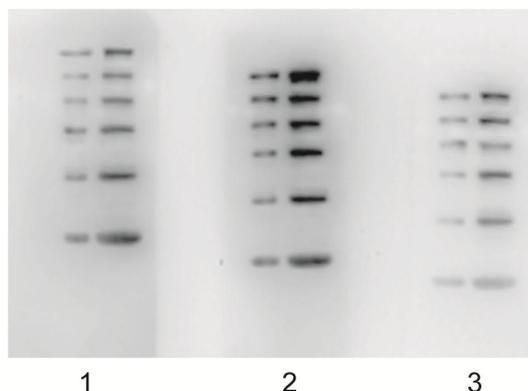
### 【操作步骤】

1. 将 HRP 标记的抗体孵育结束后的蛋白印迹膜漂洗干净。
2. 将 AFT ECL-A 液和 AFT 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。**

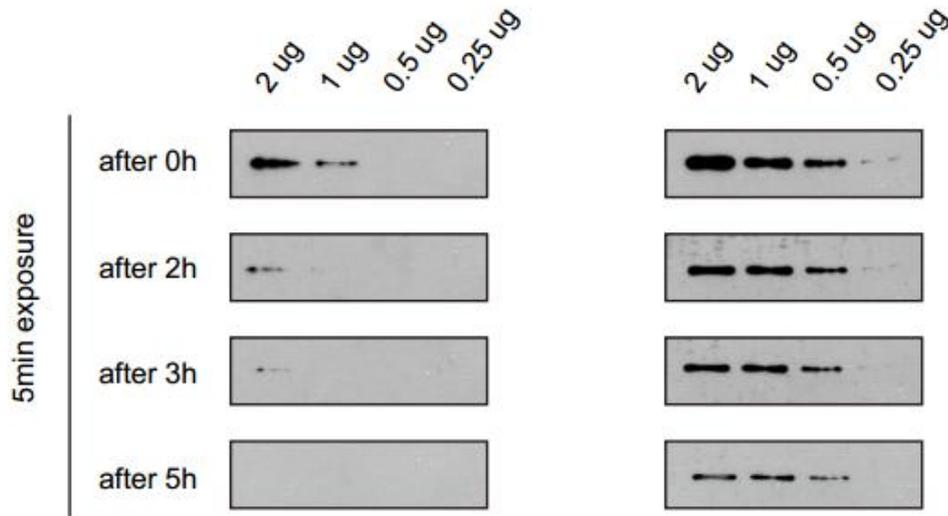
3. 将印迹膜表面的液体在吸水纸上吸干, 平铺在塑料膜上。
4. 将配好的 ECL 工作液均匀的滴在印迹膜表面, 反应 2 分钟左右后, 去除 ECL 工作液。
5. 将印迹膜夹在两层塑料膜之间, 进行 X 光压片或者放入发光成像仪内拍照。

### 【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、AFT ECL Western HRP Substrate (AFT2046) 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 AFT ECL Western HRP Substrate (AFT2046) 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) 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	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)
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 抗原/抗体量不够 蛋白转移率低	稀释 HRP 标记物至少 10 倍以上 增加抗原/抗体使用量 优化转移系统
高背景	系统中 HRP 过量 封闭不足 封闭试剂选择不当 冲洗不充分 曝光过度 抗原/抗体浓度过高	稀释 HRP 标记物至少 10 倍以上 优化封闭程序 选择另一种封闭试剂 增加冲洗时间, 次数 减少曝光时间 降低抗原/抗体使用浓度
蛋白条带为点状	蛋白转移失败 膜未平衡 胶片与膜之间有气泡	优化转移过程 按照说明书处理膜 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 SDS 导致非特异结合	进一步稀释一抗 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。