

鲁米诺化学发光试剂盒

1. 产品说明

本产品是基于鲁米诺底物的化学发光试剂盒，能够被辣根过氧化物酶（HRP）催化发光。工作液被 HRP 催化后，发出特定波长荧光（400-450nm），可对 X 光胶片曝光，也可直接使用荧光 CCD 扫描，主要应用于 Western 检测以及化学发光免疫检测系统。2-8 度保存

ECL 发光液种类	货号	A 液 ml	B 液 ml	检测下限	性能近似于		
					品牌	名称	货号
基本型	SB-WB001S	50	50	10pg	SuperSignal®	Pico	34080
	SB-WB001L	250	250				
压片型	SB-WB003S	50	50	5pg	SuperSignal®	Pico Plus	34580
	SB-WB003L	250	250				
超敏型	SB-WB002S	50	50	1pg	SuperSignal®	Dura	34075
	SB-WB002L	250	250				
通用型	SB-WB012S	50	50	0.1pg	MerckMillipore	Immobilon®	WBKLS0500
	SB-WB012L	250	250		Bio-Rad	Clarity®	1705061
卓越型	SB-WB011S	50	50	fg	SuperSignal®	Femto	34095
	SB-WB011L	250	250				

1. 工作液配制

显色液的使用比例：Solution I：Solution II=1:1；如 10 cm²转印膜需使用 1-2mL 工作液。

2. 操作步骤

根据常规操作转印结束后，进行封闭、一抗孵育、二抗孵育以及必要的洗膜步骤，根据膜的大小，按每 10cm²膜使用 1-2mL 工作液，用平头镊子将膜取出，膜的下缘轻轻接触吸水纸，去除膜上多余的液体。用移液器将工作液加到转印膜上，使其均匀覆盖。

2.1 X 光胶片法

- 1) 用平头镊子夹起转印膜，膜的下缘轻轻接触吸水纸，去除膜上多余的液体，留下少量工作液，不要让膜完全干燥。膜的蛋白面朝上，包裹于洁净保鲜膜内。轻轻赶出期间的气泡，用小块透明胶带粘住四角，固定在 X 光片暗盒内。
- 2) 在暗室中取一张 X 光胶片置于包裹的膜上，合上暗盒，曝光数秒至数分钟（视经验和抗体浓度和抗体效价而定）。立即定影、显影，根据曝光强度，调整下一张 X 光胶片的曝光时间。如果背景过高。可以使用几张 X 光胶片同时压片，取最佳结果。

2.2 荧光拍照法

- 1) 如果需要使用 CCD 拍照，可以将膜放置于工作液中，开机后按照使用说明，将转印膜取出滴加工作液，进行拍照。
- 2) 可以根据背景情况，调整机器测量参数，提高信噪比。手动长时间曝光将更有利于低信号检出

2.3 管式化学发光法

- 1) 将鲁米诺的化学发光检测波长可设定在 425nm 左右，可以选择单点测量，或者取多次平均值。
- 2) 按照机器要求，将配置好的工作液加入到样品管中，间隔一定时间测量发光强度，注意鲁米诺系统的发光到达峰值有一定延迟（30-300 秒），不同样本的测量时间间隔要固定。
- 3) HRP 催化鲁米诺发光的体系还受到反应温度以及 pH 的强烈影响，所以工作试剂准备以及发光测量需要考虑到此类因素。

3. 问题及解决方案

问题	原因分析	推荐解决方案
胶片无条带显现或者信号较弱	转膜的效率低	用预染色分子量标准来判断，提高转印膜效率
	抗原/抗体量少或不匹配	TBST 洗膜后，用检测限更低的 ECL 来重曝光
	X 光胶片有问题	X 光片洗片以后应当为透明的胶片，如果全黑则说明已经完全曝光了，应当废弃
	定显影液有问题	可以先曝光一张胶片来验证，若有问题及时更换新的定显影液
X 光胶片背景脏	反应系统中 HRP 量过多	稀释 HRP 标记物
	一抗、二抗浓度太高	降低抗体浓度，延长封闭时间，缩短曝光时间
条带有空斑	抗体未清洗干净	增加洗膜次数
	抗原以及二抗的浓度过高	稀释样品重新跑胶，也可以将混合好的显色液水浴后，加入到膜上，立即快速显色
带型不规则	转膜时候有气泡也有可能	转膜时候尽量优化条件是转印膜没有水化均匀

4. 注意事项

- 试剂盒溶液 A 为底物，保存于避光试剂瓶中，溶液 B 为氧化剂。通常取样顺序是先取底物溶液 A，换枪头后取氧化剂溶液 B。
- 本试剂盒较为稳定，室温（25℃）可以保存一年以上，长期不建议保存在 2-8℃。
- 使用生物素 - 亲和素系统时，避免使用牛奶封闭，可能会造成背景过高。
- 金属氧化物颗粒可能会造成膜上出现颗粒状斑点，避免使用带有锈迹的剪刀以及镊子，可以使用平头塑料镊子。
- 叠氮化钠抑制 HRP 的催化能力，在缓冲液中尽量避免使用叠氮化钠作为防腐剂。
- 封闭、洗膜、孵育等步骤耗时较长，注意膜与塑料界面的摩擦不均匀可能造成部分位置条带消失，可以在保鲜膜中孵育以及封闭，洗膜的塑料盒底面不要有明显凸起，可以通过剪角的方法，区别转印膜的蛋白的一面。
- 不同转印膜对蛋白的吸附能力不同，硝酸纤维素较软，避免出现折痕。PVDF 膜使用前需要使用甲醇水化均匀。
- 勿将多张膜置于同一个洗膜中洗膜，相互吸附以及摩擦可能造成很深的背景。
- 转印、封闭、孵育都要避免气泡

5. 备注： 本说明书适用于基本型（货号 SB-WB001）；压片型（货号 SB-003）；超敏型（货号 SB-WB003），订购请参考瓶身或者包装盒上货号。

上海圣尔生物科技有限公司

地址：上海市闵行区沧源路 1200 号 3321 室

网址：<http://www.share-bio.com/>

电话：021-60533564

Luminol chemiluminescence reagent kit

Product Description

This kit can be used for HRP-labeled Western Blot and ELISA experiments. X-ray film or luminometer can be used to detect the light intensity or image. The light intensity of the labeled antigen will be qualitatively or quantitatively detected. This kit has revolutionized the traditional ECL substrate system, resulting in excellent detection limits, duration of luminescence and reagent stability. Overall performance evaluation parameters would be enhanced more than hundred times. This kit is as same as the world-renowned brand's product on sensitivity systems in actual performance. Store at 2-8°C

Name	Catlog Number	Solution A ml	Solution B ml	L O D	Same as the flowing brands		
					Brand	Name	Cat
LumiA	SB-WB001S	50	50	10 pg	Super Signal®	Pico	34080
	SB-WB001L	250	250				
ECL Plus	SB-WB003S	50	50	5 pg	Super Signal®	Picoplus	34580
	SB-WB003L	250	250				
Super	SB-WB002S	50	50	1 pg	Super Signal®	Dura	34095
	SB-WB002L	250	250				
LumiQ	SB-WB012S	50	50	0.1 pg	Merck Millipore	Immobilon®	WBKLS0500
	SB-WB012L	250	250		Bio-Rad	Clarity®	1705061
Lumi Best	SB-WB011S	50	50	fg	Super Signal®	Femto	34095
	SB-WB011L	250	250				

Materials needed

1. Secondary antibody incubated Western blot membrane.
2. TBST or PBST buffer.
3. Chemiluminescence detection equipment or X-ray film.
4. If using X-ray film you need cassette and plastic film.

How to use

1. Western Blot experiments were performed as usual and the secondary antibody incubation was completed. The membrane was washed three

times for 5 min each with TBST or PBST buffer.

2. Take a certain volume of liquid A and liquid B, the 1:1 mixing reserve (For example, a 6CM * 9CM PVDF membrane needs 400ul + 400ul liquid A + B, skilled experimenter can also add less volume).

3. Remove the TBST or PBST buffer in the container. The mixed liquid A + B were evenly leached on the membrane.

Troubleshooting

Problem	Cause	Solution
Yellow band		
Light-emitting time getting shorter	Secondary antibody concentration is too high	Reduce the secondary antibody concentration
Black band		
Weak signal or no signal	Too much HRP in the system	Further dilute the HRP-conjugate
	No target protein in the sample	Check up sample preparation
	Incomplete transferring	Extend the transfer time
	Second antibody degeneration	Make new secondary antibody solution
Background is too dark or appear non-specificity bands	Poor primary antibody specificity	Adjusted primary antibody concentration
	Incomplete blocking	Extend the blocking time
	Blocking solution degeneration	Make new blocking solution
	Overexposure	Reduce exposure time

Notice: Basic (catlog: sb-wb001), ECL Plus (catlog: sb-wb003), and Super (catlog: sb-wb002) have same protocol, but they have different sensitive: Super is the highest, basic is the lowest, ECL plus is in the middle. If you want to buy again, Please see the catlog number on the bottle or box!

Shanghai Share-bio Technology Co, Ltd

Address: Room 3321, No. 1200 Cangyuan Road, Minhang District, Shanghai

<http://www.share-bio.com>

Tel: 021-60533564