For Research Use Only

普通ECL化学发光检测试剂盒

Catalog Number: PK10001

proteintech®

www.ptgcn.com

产品介绍

Proteintech 研发的普通ECL 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）配套使用的底物检测试剂盒。本产品能够在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ng 级别的抗原，发光信号强烈持久，可以使用照相技术（X-光胶片曝光）或者其他成像方法（如荧光或化学发光成像仪）进行检测。

产品特色

高信噪比——与竞品相同灵敏度ECL相比，信号更强，背景更低。
信号持续时间长——信号持续时间长达12小时以上。
兼容性强——适用于PVDF膜和NC膜，同时可用于照相技术（X-光胶片曝光）或者其他成像方法（如荧光或化学发光成像仪）。
稳定性好——4-8℃稳定保存一年以上，37℃加速3个月灵敏度无变化。
多种包装规格——100 mL / 200 mL / 500 mL
通用型B液——所有不同灵敏度ECL通用相同的B液。

包装规格

100 mL / 200 mL / 500 mL

产品成分

组分/规格	100 mL	200 mL	500 mL
A液	50 mL	100 mL	250 mL
B液	50 mL	100 mL	250 mL

保存条件

4℃密封避光保存，一年有效。

使用方法

1. Western 二抗孵育后，印迹膜经过数次充分洗涤后，用平头镊将膜取出，用吸水纸略吸去过多的液体（切勿接触膜的蛋白质），然后置于一洁净器皿内或是保鲜膜上。
2. 根据印迹膜大小，将A 液与B 液等体积混合，配制为发光检测底物工作液（使用量约为每10 cm^2 膜1 mL 或者根据个人实验习惯使用）。滴加发光底物工作液到印迹膜上，确保工作液均匀覆盖在膜上，放置1-2 分钟。
3. 取膜，弃发光底物工作液，用吸水纸略吸去过多的液体，将膜放置于两片洁净保鲜膜中间，此过程应小心完成，避免膜与膜之间产生气泡。随后进行压片检测或是荧光成像仪检测。
4. 压片检测：将膜固定于片夹内，暗室内压片1 分钟，立即显影定影，根据结果再调整压片时间。或直接分别压片30秒、1、3、5 分钟，然后一起显影定影观察结果。
5. 荧光成像仪检测：将膜放置到荧光成像仪内，参照仪器说明书进行检测。

问题解答

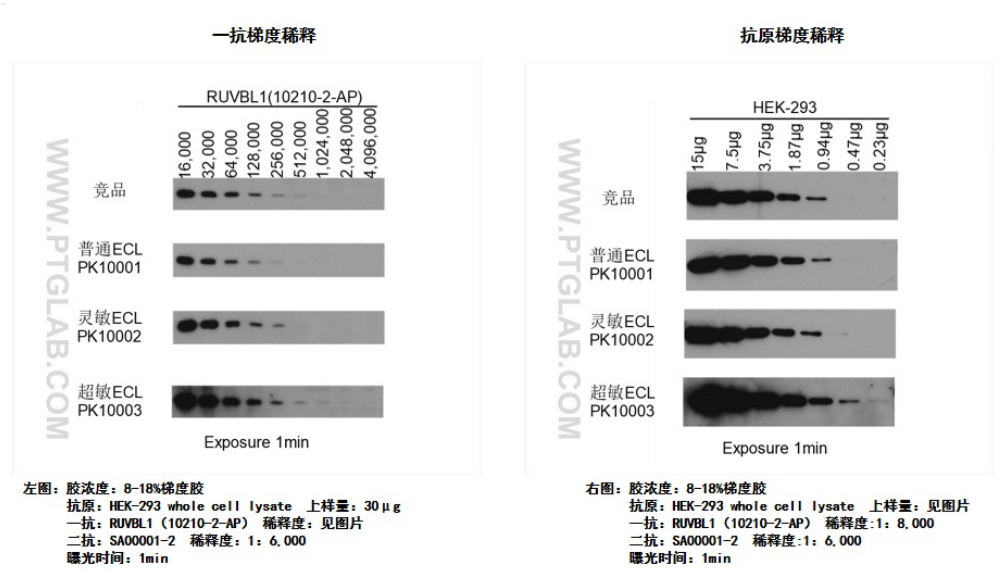
问题	可能原因	解决方法
高背景（背景高或无特异性蛋白带）	一抗的稀释没有使用正确的缓冲液和正确的浓度	使用推荐的封闭液和 TBS/T 稀释抗体并 4℃孵育过夜
	化学发光检测时没有使用相应的膜	使用高质量的 NC 膜或 PVDF 膜
	膜封闭不足导致一抗或二抗产生大量的非特异性结合	用含 5%脱脂奶粉的 TBS/T 在室温封闭 1-2 小时
	二抗的稀释没有使用正确的缓冲液和正确的浓度，或二抗的特异性差	一些二抗会与蛋白产生非特异性的结合。因此在检测中可加入一步二抗的对照试验，在没有一抗的情况下，直接加入二抗孵育。也可将二抗用含 5%脱脂奶粉的 TBS/T 在室温下孵育 1 小时
	配制试剂的用水水质不佳	在配制试剂时（尤其是磷酸化抗体）使用 Milli-Q 或其它超纯的去离子水
信号弱（检测不到信号）	一抗孵育不足	适当延长孵育时间（4℃孵育过夜）
	转膜不完全	转膜时采用更高的电压和更长的时间。也可采用预染的蛋白 Marker 监控转膜的过程
	蛋白的表达水平低于检测底限	在每孔中加入更多的蛋白； 换用表达高的样本或细胞； 检测前适当刺激蛋白的表达
	二抗与一抗的结合率太低	提高二抗的浓度或换用与一抗匹配的二抗
	配制试剂时发生交叉污染	重新配制各种试剂
	ECL灵敏度较低	更换灵敏度更高的ECL

注意

1. 为获得最佳实验结果，请务必优化实验条件，包括检测样品的用量、一抗和二抗稀释度、杂交膜及封闭试剂的选择。
2. 务必使用推荐的抗体稀释浓度以获得阳性结果，最佳抗原和抗体用量须通过预实验来确定。
3. 由于奶粉中含有内源性生物素，在使用亲和素/生物素系统时，封闭液中应避免使用奶粉。
4. 由于叠氮钠是HRP 抑制剂，在缓冲液中应避免使用叠氮钠作为防腐剂。

5. 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。
6. A 液和B 液在吸取过程中必须要更换枪头，A 液和B 液相互污染后会导致A 液或B 液逐渐失效，影响后续的使用效果。A 液与B 液混合后须尽快使用，放置过久会影响灵敏度。
7. 各溶液使用后，请盖紧瓶盖避光保存，以防失效。特别是B 液，含有氧化剂，比较容易被还原而失效。
8. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

实验图片



左图：胶浓度：8-18%梯度胶
抗原：HEK-293 whole cell lysate 上样量：30μg
一抗：RUVBL1（10210-2-AP） 稀释度：见图片
二抗：SA00001-2 稀释度：1：6,000
曝光时间：1min

右图：胶浓度：8-18%梯度胶
抗原：HEK-293 whole cell lysate 上样量：见图片
一抗：RUVBL1（10210-2-AP） 稀释度:1：8,000
二抗：SA00001-2 稀释度:1：6,000
曝光时间：1min