

ECL Chemiluminescence Substrate Kit

Cat# PD0001

产品概述

ECL Chemiluminescence Substrate Kit (ECL 化学发光底物试剂盒) 是一种基于 Luminol 的高灵敏、非放射性的化学发光底物, 用于在免疫印迹实验中检测被固定在膜上标记有辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 的蛋白, 可检测皮克 (pg) 级的抗原含量。该反应产生一种长时间可持续的化学光, 可通过 x 射线胶片或成像系统进行可视化实验结果分析。

产品/组分信息

组分名称	PD0001-10ML	PD0001-100ML	PD0001-500ML
ECL-PG-A solution	5 mL	50 mL	250 mL
ECL-PG-B solution	5 mL	50 mL	250 mL

储存方式

2-8°C, 避光保存。

使用说明

操作前注意事项

- 试剂开封后, 需要盖好盖子并避光保存; 操作时也需要尽量避光; 试剂现配现用;
- 实验前需要对样品用量、胶/膜类型、转移方法、封闭试剂、洗液、一抗和二抗浓度、孵育时间等进行组合优化, 从而获得最佳实验效果;
- 避免孵育或封闭过程中膜因溶液体积不足而变干;
- 避免使用叠氮化钠, 该成分会抑制 HRP 活性;
- 所有设备必须充分清洁, 实验中用到的金属器械不得有可见的锈迹, 因为锈迹可能导致斑点形成和高背景。
- 切勿将该试剂与其他品牌试剂混用;
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并佩戴一次性手套;
- 本产品仅用于科研。

所需物料

印迹膜、x 射线胶片或 CCD 成像系统、摇床。

操作时间

操作步骤	洗膜	膜封闭	加入一抗	洗膜	加入二抗	洗膜	制备底物并孵育	成像
操作时间	5 mins	30-60 mins, 振摇; 或 2-8℃, 不振摇, 过夜	60 mins, 振摇; 或 2-8℃, 不振摇, 过夜	30 mins	30-60 mins	30 mins	10 mins	10 mins

试剂用量

Cat# PD0001-100ML: ~100 次, 1 mL/pieces

Cat# PD0001-500ML: ~500 次, 1 mL/pieces

操作步骤

根据下面步骤进行实验（注意：所有试剂或溶液在使用前都需要进行充分混匀）。

- 1. 洗膜**
转膜完成后，将印迹膜从转膜仪上取出，并用去离子水振摇洗去转膜液。
- 2. 膜封闭**
用含有 0.05% Tween-20 的封闭液室温下振摇封闭印迹膜，30-60 mins;
或者 2-8℃条件下封闭过夜，不振摇。
- 3. 加入一抗**
按照一抗使用说明书将一抗稀释到合适的浓度（一般 0.2-1 $\mu\text{g/mL}$ ），室温下振摇孵育 60 mins 或 2-8℃条件下孵育过夜，不振摇。
- 4. 洗膜**
使用含有 0.05% Tween-20 的洗液，振摇洗膜至少 5 mins，重复 4 次以上洗膜步骤，随后进行下一步。如果使用偶联了 HRP 的一抗，则直接进行第 7 步骤。
- 5. 加入二抗**
按照二抗说明书将二抗稀释到合适的浓度（一般 10-50 ng/mL），室温振摇孵育 30 mins 到 60 mins
- 6. 洗膜**
使用含有 0.05% Tween-20 的洗液，振摇洗膜至少 5 mins，重复 6 次从而洗去未结合的二抗。该步清洗对于控制因非特异性结合导致的高背景至关重要。
- 7. 制备底物并孵育**
制备底物溶液。根据需要的量，将该试剂盒中的 ECL-PG-A solution 和 ECL-PG-B solution 等体积混合，随后将膜在底物溶液中孵育 5 mins。
【注】 1. 注意配置足量的底物溶液，避免印迹膜变干而影响实验结果（一般用量为 0.1 mL/cm²）；2. 配好的工作液能够在室温下稳定 8 hours。
- 8. 成像**
将印迹膜从底物溶液中取出，置于保鲜膜或塑料保护板上。使用吸水纸吸去多余的液体，仔细将印迹膜与保护膜之间的气泡除去。
使用 X 射线胶片或成像系统进行进一步的可视化分析。
【注】 1. 化学发光反应在底物孵育后的前 5-30 分钟期间最为强烈，如底物孵育后较长时间后曝光，需要适当延长曝光时间。2. 如果信号太强或者背景干扰过大，则需要调整实验参数，重新进行实验。

Technical Support

Copyright © 2023 CYTOCH, All Rights Reserved. The CYTOCH logo is a registered trademark.

To place an order or to obtain a product information, please go to: www.cytoch.com.

Or contact us by:

E-mail: support@cytoch.com

Tel: 400-969-8881

For research use only.

