

# ECL 检测试剂盒

## ECL Detection Kit

说明书修订日期: 2017.05.12

Cat Number: KGP1121-KGP1123

Store at 2-8°C for 6 months, 避光

For Research Use Only (科研试剂)

### 一、试剂盒说明

凯基 ECL 检测液用于 Western blot 的化学发光检测, 比化学显色法灵敏度高, 可达 ng 水平。原理是采用新型发光底物 (Luminol), 其与辣根过氧化物酶反应时产生很强的光信号, 在暗房中对 X-光片感光, 以此检测微量蛋白而获得理想的实验结果。

在电泳的过程中, 将复杂的蛋白混合物经 SDS-PAGE 分离, 并转移到固相膜上 (如 NC、PVDF) 等, 经辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的抗体与膜上的蛋白直接 (标记一抗) 或间接 (标记二抗) 反应。当加入凯基 ECL 检测液后, Luminol 发生氧化降解, 并发射波长为 428nm 的光, 此光可经 X 光片 (放射自显影片) 感光记录下来。凯基 ECL 检测液用量为 0.1mL/cm<sup>2</sup>。

### 二、试剂盒组份

组份	KGP1121	KGP1123	储存条件
Stock A	50ml	50ml×2	2-8°C 避光
Stock B	50ml	50ml×2	2-8°C
增强剂	50ul	100ul	2-8°C

### 三、操作步骤

#### A. 印迹膜制备

按常规方法完成 SDS-PAGE 和电转膜操作, 接着封闭过夜, 加入一抗, 室温振荡 1h, 用 PBST 洗涤四次, 每次 10min; 然后加入 HRP 二抗交联物, 室温振荡 1h, 用 PBST 洗涤四次, 每次 10min。

#### B. ECL 工作液的配制

取 1.5ml 的 eppendorf 管, 然后加入 500μL Stock A 液和 500μL Stock B 液, 再加入增强剂 0.5ul 混合后即为 ECL 工作液 (配制后请尽快使用)。将膜片平铺, 滴加 ECL 工作液使其将膜片完全覆盖 (每平方厘米膜片至少使用 0.1mLECL 工作液)。

#### C. 蛋白信号显现

1. 用平头镊钳住膜片, 垂直置于吸水纸以吸去过量试剂。
2. 置膜片于二层保鲜膜之间, 小心赶尽气泡。
3. 将膜片吸附蛋白面朝上, 置于 X 光片盒中。
4. 于暗室中压上 X 光片。
5. 曝光: 如果在暗室中可肉眼看到比较亮的条带, 建议曝光 1 分钟-3 分钟; 如果肉眼看到的带比较淡, 建议曝光 3-10 分钟; 如果很淡或基本看不到带, 建议曝光 10 分钟-30 分钟。
6. 最后可以根据结果调节曝光时间, 再次曝光显影。

凯基相关产品（详见凯基网站 <http://www.keygentec.com.cn>）

#### 1、 蛋白提取

核蛋白和胞浆蛋白提取试剂盒

全蛋白提取试剂盒膜蛋白和胞

浆蛋白提取试剂盒线粒体蛋白

提取试剂盒

磷酸化蛋白提取试剂盒（简易型）

活性蛋白提取试剂盒红细胞裂解液

细菌蛋白提取试剂盒

酵母蛋白提取试剂盒

植物蛋白提取试剂盒

蛋白裂解液系列

#### 2、 蛋白定量

BCA 法蛋白定量检测试剂盒

Bradford 法蛋白定量检测试剂盒

Lowry 法蛋白定量检测试剂盒

#### 3、 蛋白染色

蛋白质银染检测试剂盒蛋白质考马

斯亮蓝染色检测试剂盒考马斯亮蓝

蛋白快速染液

#### 4、 蛋白分子量 Marker

蛋白分子量 Marker（14KD-116KD）

蛋白分子量 Marker（10KD-200KD）

预染蛋白分子量 Marker（20KD-118KD）

预染彩色蛋白分子量 Marker（11KD-250KD）

#### 5、 Western blotting 组装试剂盒

凯基蛋白提取和 SDS-PAGE 凝胶电泳试剂

盒凯基 Western blotting 检测试剂盒

#### 6、 Western blotting 化学发光试剂盒

ECL 检测试剂盒加强型

ECL 检测试剂盒