



cECL Western Blot Kit

低背景化学发光检测试剂盒

Cat. No. CW0048S (50 mL)
CW0048M (250 mL)

储存条件：2-8℃，避光保存

产品内容

Component	CW0048S 50 mL	CW0048M 250 mL
cECL-A(Luminol)	25 mL	125 mL
cECL-B(Peroxide)	25 mL	125 mL

产品简介

低背景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) 配套使用的低背景底物检测试剂盒。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X-光胶片曝光或者化学发光成像等仪器进行检测。

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. 康为世纪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. 二抗孵育完毕后, 将印迹膜充分洗涤。
2. 根据需要量, 将 cECL-A 和 cECL-B 按照1: 1的比例等体积混合, 配制为发光检测底物工作液 (一张8 cm×6 cm的膜大约使用 1 ml工作液)。
3. 弃去洗涤缓冲液, 将发光底物工作液滴加在印迹膜上, 确保工作液覆盖整张膜, 室温孵育 3-5分钟。
4. 用移液器吸去多余发光底物工作液, 将印迹膜置于两层干净的塑料薄膜之间, 此过程应小心完成, 避免膜与膜之间产生气泡。
5. 在暗室内进行X-光胶片曝光, 或将膜放置到化学发光成像仪内, 按照仪器说明书进行检测。

附表

问题	可能原因	解决方法
胶片反相（白色条带，黑色背景）	系统中 HRP 过量	稀释 HRP 标记物至少 10 倍以上
系统中 出现棕色或黄色条带		
暗室中看到强烈发光		
发光信号持续时间过短		
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	稀释 HRP 标记物至少 10 倍以上
	抗原/抗体量不够	增加抗原/抗体使用量
	蛋白转移率低	优化转移系统
高背景	系统中 HRP 过量	稀释 HRP 标记物至少 10 倍以上
	封闭不足	优化封闭程序
	封闭试剂选择不当	选择另一种封闭试剂
	冲洗不充分	增加冲洗时间，次数
	曝光过度	减少曝光时间
	抗原/抗体浓度过高	降低抗原/抗体使用浓度
蛋白条带为点状	蛋白转移失败	优化转移过程
	膜未平衡	按照说明书处理膜
	胶片与膜之间有气泡	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