

ECL for Western Code No.BW-2030, BW-2031

【目的・用途】

HRP(西洋わさびペルオキシダーゼ)標識抗体を検出するための化学発光試薬です。本試薬はルミノールを基質とし、独自のエンハンサーを加えることで、ピコグラムレベルのタンパク質の検出が可能です。

【特徴】

- 1) ピコグラム低域の検出感度
- 2) 2液を混合するだけの簡単操作
- 3) 発光持続時間は約1時間
- 4) 検出溶液は混合した状態で1時間安定

【キット内容・保存方法】

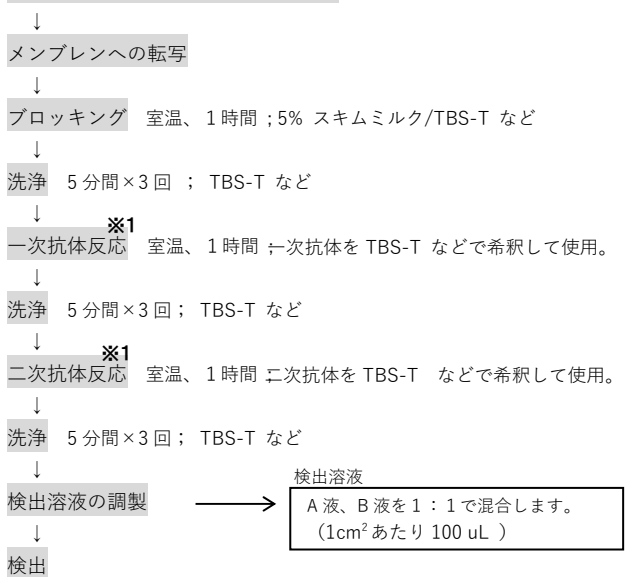
内容	容量		開封後の保存方法
	BW-2030	BW-2031	
A液(ルミノール溶液)	50mL	250mL	室温
B液(過酸化水素溶液)	50mL	250mL	室温

【使用期限】

上記保存方法にて3ヶ月 (4°Cの場合は6ヶ月)

【基本プロトコール】

SDS-PAGE によるタンパク質の分離



- ① 洗浄したメンブレンを清潔なトレイに置き、必要量(1cm²あたり100μL)の検出溶液をのせます。メンブレン全体に溶液が行き渡るようにしてください。
- ② 室温で5分間静置します。
- ③ メンブレンの端をキムワイブなどに触れさせ、余分な検出溶液を除去します。
- ④ 乾燥を防ぐため、ラップでメンブレンを覆います。
- ⑤ CCDイメージャーを用いて発光を検出します。
(条件検討開始時の推奨露光時間は60秒です。)

※1

- 抗体メーカー推奨希釈率からお試してください。抗体によっては、メーカー推奨希釈率よりさらに10倍程度希釈しても検出が可能です。

【トラブルシューティング】

トラブル	原因と対策
シグナルが見えない	転写がうまくいっていない。メンブレン染色液を用いてタンパク質の転写を確認してください。 抗体が不適切。それぞれの抗体の品質や特異性を確認してください。
シグナルが弱い	抗原タンパク質濃度が低い。できる限り濃い試料を用いてください。 抗体濃度が低い。最適な抗体濃度を検討してください。 膜への転写が不十分。電流量を上げるか、転写時間を延長してください。 ブロッキングが強すぎる。オーバーナイトなどでブロッキングを強くしすぎるとシグナルが弱くなる場合があります。 露光時間が短い。検出時の露光時間を延ばしてください。
バンドの一部が抜ける	抗原量が多すぎる、又は抗体濃度が高すぎる。基質の枯渇による発光の衰退が起こることがあります。最適な抗原量・抗体濃度を検討してください。
エキストラバンドが多い	抗体濃度が高すぎる。過剰な抗体により、非特異的なシグナルが増大することがあります。最適な抗体濃度を検討してください。 タンパク質が多すぎる。電気泳動するタンパク質量を減らしてください。 ブロッキング不足。ブロッキング時間を延ばす、ブロッキング剤の濃度を上げる等の対策を行ってください。 メンブレンの汚れ、損傷などによる非特異的なシグナル。メンブレンの取り扱いに注意してください。
バックグラウンドが高い	洗浄が不十分、又はブロッキングが不十分。洗浄回数や洗浄時間を増やす、又はブロッキング剤濃度や時間を増やしてください。 抗体濃度が高い、又は反応時間が長い。抗体濃度を低くするか、抗体との反応時間を短くしてください。 メンブレンの乾燥。どのステップにおいてもメンブレンを乾燥させないでください。 露光時間が長すぎる。露光時間を短くし、検出を行ってください。



株式会社ファーマフーズ アプロサイエンスグループ
〒770-0865 徳島県徳島市南末広町4-53 エコービル4階
■Tel:088-678-6372 ■Mail:bio@apro-s.com
■Url:https://apro-s.com/
本社 〒615-8245 京都府京都市西京区御陵大原1-49