ECL Basic Pico Kit(10pg) {ECL 化学发光底物,普通皮克型 10pg}

货号：BRK0091

规格：100 mL / 500 mL

◆ 产品简介

ECL 化学发光底物,普通皮克型 10pg,是一款常规灵敏度的化学发光(ECL)HRP 底物，可帮助用户在免疫印迹分析过程中实现皮克级的蛋白检测(~1×10^{-11}g)，极其节省抗体。ECL 底物可为使用辣根过氧化物酶(HRP)偶联物的免疫印迹实验提供明亮的信号和皮克级检测灵敏度。该底物能够兼容各种膜、封闭液和宽范围抗体稀释液，以出色性能、通用性和高性价比，满足用户的免疫印迹应用需求。

◆ 产品特点

1.常规灵敏度：检测硝化纤维素膜或 PVDF 膜上皮克级的蛋白条带。

2.长信号持续时间：在条件优化情况下，经底物孵育的印迹条带能够持续输出 6~8 h 的可检测光信号。

3.价格经济: 配方经过优化, 建议稀释浓度： 一抗浓度: 建议以 1mg/mL 储备液起 1:1,000-1:5,000 或 0.2-1ug/mL ；二抗浓度：建议以 1mg/mL 储备液起 1:5,000-1:20,000 或 2.5-10ng。

◆ 产品组成

组成	体积 1	体积 2
SolutionI	50 mL	250 mL
SolutionII	50 mL	250 mL

◆ 保存条件

2-8℃避光保存，有效期 24 个月。

◆ 操作步骤（仅供参考）

1. 取出印记膜，加入合适的封闭液在温室下孵育 20~60 min，同时振荡，以封闭膜上非特异性蛋白结合位点。

2. 将膜从封闭液中取出，与一抗工作液在温室孵育 1 h，同时振荡；或在 28℃ 孵育过夜，不振荡。

3. 将足量的洗涤缓冲液加至膜上，保证缓冲液将膜完全覆盖。振荡孵育≥5 min，更换洗涤缓冲液并重复该步骤 4~6 次。增加洗涤缓冲液体积，洗涤次数和洗涤时间有助于降低背景信号。

注意：①孵育前，膜在洗涤缓冲液中的短暂淋洗会提高洗涤效率。②按前文建议的 HRP 标记二抗稀释度非常重要的。

4. 将 HRP 标记的二抗工作液与膜在温室孵育 1 h，同时振荡。

5. 重复步骤 3，以除去未结合的 HRP 标记二抗。

注意：膜与 HRP 标记二抗孵育后必须进行彻底洗涤。

6. 将 SolutionI溶液与 SolutionII液等比例混合，试剂盒 SolutionI为底物，保存于避光试剂瓶中，SolutionII为氧化剂。通常取样顺序为先取 SolutionI，换枪头后再取氧化剂 SolutionII。制备成工作液。每 cm^2 膜使用 0.01~0.1 mL 工作液，工作液可以在温室下稳定 8 h。

注意：建议立即使用工作液，室温放置数小时后仍可使用但灵敏度略有降低。暴露于日光或其他强光下可能损害工作液，为获得最佳结果，请将此工作液保存在琥珀色瓶中或暗室操作。

400-999-6126 cn.market@abclonal.com www.abclonal.com.cn

7. 将印记膜在工作液中孵育 5 min。从工作液中取出印记膜，并置于一个塑料片或清洁的塑料纸（膜）中，用一张吸水纸吸除多余的液体，并从印记和塑料纸之间小心地压出气泡。

8. 将包在塑料纸（膜）中的印记膜置于胶片暗盒中，蛋白质面朝上，除适用于胶片曝光的灯（如红色安全灯）之外，关闭所有的灯。

注意：①胶片必须在曝光期间保持干燥；②确保将多余的底物从膜和塑料纸上完全去除；③在整个胶片处理期间，使用手套。

9. 将 X 光胶片置于膜的上面。建议第一次曝光 60 s。之后可调整曝光时间以达到最佳结果。化学发光反应在底物孵育后的前 5~30 min 期间是最强烈的。这一反应可以持续几个小时，但强度会随时间下降，如有底物孵育后较长时间后曝光，曝光时间可能需要延长以获得较强信号。如果使用磷光存储成像设备（如 Bio-Rad 的分子成像仪系统）或 CCD 照相机可能需要较长的曝光时间。

注意：胶片与膜之间的任何移动可能在胶片上造成人为的非特异信号；请注意充分利用荧光较强的 30 min 进行压片。

10. 使用合适的显影剂和定影剂对胶片进行显影。如果信号太强，则缩短曝光时间或将印记膜进行剥离并降低抗体浓度重新检测。

◆ **注意事项**

1. 本产品仅限于科学实验研究使用，不得用于临床诊断、治疗等领域。 SolutionI、SolutionII均对人体有害，操作时请注意适当防护。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

2. 为获得最佳效果，必须优化该系统的全部组分，包括样品量、一抗和二抗浓度以及膜和封闭试剂的类型。

3. 使用本产品比使用沉淀比色 HRP 底物检测所需的抗体浓度低。为优化抗体浓度，请进行一次系统的点印迹分析。

4. 没有一种封闭试剂对所有系统而言都是最佳的，所以为每一个免疫印迹检测系统找到最合适的封闭缓冲液非常必需。封闭试剂有可能与抗体产生交叉反应，导致出现非特异性信号。封闭缓冲液同时也会影响系统的灵敏性。当从一种底物转换为另一种底物时，有时会出现信号衰减或背景增加的现象，原因可能是封闭缓冲液不适合新的检测系统。

5. 使用亲和素/生物素检测系统时，避免使用牛奶作为封闭试剂，因为牛奶中含有不定量的内源性生物素，会导致高背景信号。

6. 保证洗涤缓冲液、封闭缓冲液、抗体溶液和底物工作液的使用体积，以确保在整个实验过程中印迹膜完全被液体覆盖，避免膜变干。增大封闭缓冲液及洗涤缓冲液的使用量可以降低非特异性的信号。

7. 为获得最佳效果，在孵育步骤请使用摇床。

8. 将 Tween20(终浓度 0.05~0.1%)加入封闭缓冲液和稀释的抗体溶液，以降低非特异信号。使用高品质的产品，如去污剂。它保存在安瓿中，过氧化物和其他杂质含量很低。

9. 不要使用叠氮钠作为缓冲液的防腐剂。叠氮钠是 HRP 的抑制。

10. 避免手与膜直接接触，实验过程应戴手套或使用干净的镊子。

11. 所有设备必须清洁且不沾染外来物质。金属器械（如剪刀）不得具有可见的锈迹。锈迹可能导致斑点形成和高背景。

12. 底物工作液在室温下可稳定 8 h。日光或任何其他强光下可能损害底物，为获得最佳结果，将底物工作液保存在琥珀色瓶中，并避免长期暴漏在任何强光下，短时间暴漏于实验室常规照明不会损害该工作液，移到暗房操作可以避免。

13. 各溶液使用后请盖紧瓶盖，以防失效。尤其是 SolutionII，因其含有氧化剂较容易被还原而失效。