EZ ECL 化学发光液（增强型）

产品描述

EZ ECL 化学发光液（增强型）是一款高灵敏度的化学发光(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^{-12}g)，极其节省抗体。EZ 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。

EZ ECL 底物的特点：

- **灵敏度高**：检测硝化纤维素膜或PVDF膜上皮克级的蛋白条带。
- **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。

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1:20,000-1:100,000或10-50ng/mL

订购信息

产品名称	货号	规格
EZ ECL 化学发光液（增强型）	AP34L014	100 mL
EZ ECL 化学发光液（增强型）	AP34L015	500 mL

产品组分

组分	AP34L014	AP34L015
增强型A液	50 mL	250 mL
增强型B液	50 mL	250 mL

运输与保存

蓝冰运输。4°C避光干燥保存，有效期12个月。

使用方法

1. 取出印记膜，加入合适的封闭液在温室下孵育 20~60min，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°C 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】：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】：膜与 HRP 标记二抗孵育后必须进行彻底洗涤。
6. 将 A 溶液与 B 液等比例混合，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】：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光；实验室的常见照明不会损害工作液。

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】：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】：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。
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。
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。该底物极其敏感，自测李记底物正常使用比大多数他牌底物少得多的样品、一抗、二抗。
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。

相关产品推荐

EZ Trans 细胞转染试剂（高效）（货号：AC04L092）
EZ DNA Marker 系列（ 货号：AN33L086）