



Product Number: BY-0105

本产品仅供科研使用

ECL发光液（超敏）

Baldeagle ECL 发光液是一款高灵敏度的增强型化学发光(ECL)HRP 底物，可帮助用户在免疫印迹分析过程中实现低于皮克级的蛋白检测($<1 \times 10^{-12}$ g)，极其节省抗体。Baldeagle 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低皮克级检测灵敏度。该 ECL 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。

ECL 底物的特点：

- 灵敏度高：检测硝化纤维素膜或 PVDF 膜上低皮克级的蛋白条带。
- 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。
- 试剂稳定：试剂盒在室温下可稳定放置长达 6 个月，4°C 条件下存放 1 年不影响使用。

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

使用方法：

1. 取出印记膜，加入合适的封闭液在温室下孵育 20~60 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°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避光；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. 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。
2. 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。
3. 为获得最佳效果，在孵育步骤请使用摇床。

运输与储存

蓝冰运输。4℃避光保存，有效期 12 个月。