

Femto-Sensitive ECL Solution/超敏化学发光液

产品名称	货号	规格	单位	储存条件
Femto-Sensitive ECL Solution/超敏化学发光液	MK-0100	50ml*2	包	2-8°C避光
	MK-01000	500ml*2	包	2-8°C避光

【产品描述】

Femto-Sensitive ECL Solution 是一种基于 Luminol 的高灵敏性、非放射性化学发光底物，用于检测免疫印迹中固定在膜上的辣根过氧化物酶（HRP），最低可检测飞克级别的抗原。持续发光时间长达 6 个小时，可反复曝光于 X 射线胶片或化学发光成像系统，以获得最佳的结果或剥离的免疫检测试剂和再探测。Femto-Sensitive ECL Solution 可用于 Western Blot, Northern Blot, Southern Blot, Dot Blot 等实验中检测 HRP 标记的探针或者抗体。

【产品特点】

1. 超灵敏：含独特的发光增强剂，发光灵敏度超高。
2. 低背景 含精准的发光底物，提高信噪比，灵敏度更高背景却更低。
3. 信号强 有独特的发光配方，发光时间长达 6 小时以上，轻松进行曝光操作。
4. 稳定 含独特的发光稳定剂，室温下密封避光保存效期 1 年，2-8°C 储存长达 2 年。

【使用说明】

1. 常规电泳、转膜、HRP 标记抗体或核酸探针孵育、洗膜。注意用 HRP 标记 IgG 或用一抗-链亲和素-生物素-HRP 夹法。核酸杂交膜用 HRP 标记探针杂交，洗膜。
2. 洗涤膜上的 HRP 标记二抗时，新鲜配制发光工作液：分别取等体积的溶液 Luminol/Enhancer solution 和 Stable Peroxide Buffer 1:1 混合，放置使之升到室温否则会减弱荧光强度。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。
3. 用镊子取出膜，搭在滤纸上沥干洗液但勿使膜完全干燥。将膜完全浸入并与发光工作液(0.125ml 发光工作液/cm 膜)充分接触。室温孵育 3-5 分钟，准备立即压片曝光。孵育时间过长不会增加灵敏度，有时还会导致曝光条带异常。发光过程的本质是酶促反应，使用过少的发光工作液不利反应进行，也会导致膜上条带曝光不均和明显降低灵敏度。为达节约目的可将膜剪小但勿降低发光液用量。
4. 用镊子夹起膜，搭在滤纸上沥干发光工作液。

5. 在 X 光胶片暗盒内面铺一张面积大于膜的保鲜膜。将杂交膜贴在保鲜膜上，将保鲜膜折起来完全包裹杂交膜，去除气泡和皱褶，可剪去边缘部多余的保鲜膜。用滤纸吸去多余的发光工作液。用胶带将覆盖杂交膜的保鲜膜固定在暗盒内，最好蛋白带面向上。
6. 在黑暗中放入 X 光胶片，分别曝光不同的时间如数秒到数分钟。显影冲洗。

【注意事项】

1. 为获得最佳实验结果，请务必优化实验条件，包括检测样品的用量、一抗、二抗稀释度以及杂交膜及封闭试剂的选择；
2. 由于牛奶中含有内源性生物素，在使用亲和素/生物素系统时，封闭液中请避免使用奶粉；
3. 在封闭缓冲液及所有抗体稀释液中加入高质量的吐温-20（终浓度为 0.05 %），以减少非特异性结合；
4. 由于叠氮钠是 HRP 抑制剂，在缓冲液中避免使用叠氮钠作为防腐剂；
5. 整个免疫印迹实验过程请确保印迹膜始终处于湿润状态，避免干燥；
6. 为获得最佳实验效果，抗体孵育及膜洗涤步骤中请使用摇床辅助完成；
7. 在膜操作过程中请带手套操作或者使用干净的镊子，避免蛋白污染；
8. 实验过程中，请使用干净的器材。保证非金属设备没有明显划痕，金属设备表面无锈。锈可能导致膜上带有污点或者高背景；
9. 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 8 小时。如暴露于阳光或其他强光下，工作液会受影响。为获得最佳效果，可于棕色瓶中配制工作液，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；
10. 蛋白过量或长时间曝光，将加深背景并使条带强弱变化失去线性关系。曝光不足则条带模糊
11. 发光工作液孵育约 3 分钟后膜上的条带发光。强条带发光在暗房中肉眼可见，低丰度蛋白条带发光较弱甚至肉眼不可见但可使 X 光胶片曝光。不能简单以肉眼观察判断条带发光时间。肉眼不可见的荧光实际上可持续数小时并使 X 光胶片感光，因而弱带可曝光 1-10 小时。如果曝光后条带不佳，可用洗膜缓冲液洗膜，重新孵育二抗，然后重新用 ECL 发光和曝光；
12. 某些市售保鲜膜包裹印迹膜时会淬灭荧光，应选择高质量保鲜膜，例如“克林莱”牌子保鲜膜。