

超敏化学发光液 Plus 使用说明书

产品名称	货号	规格	单位	储存条件
超敏化学发光液 Plus	MK-S100	50ml*2	包	2-8°C避光
	MK-S500	250ml*2	包	2-8°C避光

【产品介绍】

Femto-Sensitive Plus ECL Solution 发光液是一种用于检测免疫印迹膜上辣根过氧化物酶 (HRP) 的超高灵敏的增强底物。可通 HRP 实现实现低飞克级 (以 HRP 浓度为准) 的免疫印迹 检测, 这一独特的发光底物系统是目前最灵敏的商业化荧光 ECL 检测试剂, 该反应产生延长的化学发光, 其可在 X 射线胶片或成像系统上可视。

特点:

1. 发光迅速, 瞬时即出结果。
2. 具有极高灵敏度和高信噪比, 可检测丰度为低飞克级的蛋白条带。
3. 信号明亮强度高, 通过胶片或成像系统进行曝光, 易于捕获图像。
4. 发光持续时间长, 荧光可使 X 光胶片感光达 8 小时以上。
5. 极其节省抗体。2ng 至 10 ng/mL 二抗 (以 1 µg/mL 储存液稀释 1:100,000 至 1:500,000 倍)。
6. 稳定性高, 室温下可稳定放置 6 个月, 在 2-8°C 避光下保存, 可保持性能稳定 1 年。

【重要提示】

1. 产品用于: 仅供研究使用, 不适用于人或动物的体外诊断与治疗。
2. 由于实验受多种因素影响具有不确定性, 本说明书操作说明仅供参考, 最终解释权归本公司所有。
3. 警告! 产品对人体危害性未知, 请遵循操作说明。穿戴适当的防护眼镜、衣服和手套! 如果不小心接触, 应立即用大量的水冲洗, 如引起身体不适前往医院治疗。

【注意事项】

为获得最佳显色效果, 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。

1. 使用该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。
2. 工作液在室温下 8 小时内可以保持稳定, 但是应该避免暴露在阳光下或任何其他强光环境, 然而短期实验室照明强度不会破坏工作液的稳定性。
3. 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。

4. 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。
5. 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。
6. 为获得最佳效果，在孵育步骤请使用摇床。
7. 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。
8. 不要使用叠氮钠作为缓冲液的防腐剂，叠氮钠是 HRP 的抑制物。
9. 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。
10. 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。

【所需要其他材料】

1. 已完成转印的印迹膜：使用任何合适的电泳法分离蛋白质，并将这些蛋白质转移到硝酸纤维素膜上，也可使用其他类型的膜，但操作步骤可能需要进行优化。
2. 用于处理放射显影胶片的胶片暗盒、显影和定影试剂。
3. 用于孵育的旋转摇床。
4. 其他试剂
 - 稀释缓冲液：使用 Tris 或磷酸盐缓冲液。
 - 洗涤缓冲液：将 5 mL 10% 的 Tween-20 加入 1000 mL 稀释缓冲液 (Tween-20 的终浓度 将为 0.05%)。
 - 封闭试剂：将 0.5 mL 10% 的 Tween-20 加入 100 mL 的封闭缓冲液，选择一种与稀释缓冲液具有相同基本组分的封闭缓冲液。
 - 一抗：选择一种目标蛋白质特异性抗体，使用稀释缓冲液制备该抗体的 1 mg/ml 储液。使用封闭试剂将抗体从储液稀释成抗体工作液。稀释度介于 1:5,000 和 1:10,000 之间或抗体工作液浓度为 0.2-1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。最佳稀释度取决于一抗和膜上的抗原量。
 - HRP 标记的二抗：选择一种与二抗特异性结合的 HRP 标记二抗，使用稀释缓冲液制备该 抗体的 1 mg/ml 储备液。使用封闭试剂将抗体从储备液稀释成抗体工作液。稀释度介于 1:100,000 和 1:500,000 之间或抗体工作液浓度为 2-10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。该浓度范围在使用链亲和素-HRP 时也适用。二抗的最佳稀释度取决于 HRP 标记二抗和膜上的抗原量。

【使用本产品的抗体参考稀释范围】

一抗稀释范围	二抗稀释范围
将一抗浓度稀释到 1ng 至 0.2 ng/mL (以 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 储存液稀释 1:5,000 至 1:100,000 倍)	将二抗浓度稀释到 2ng 至 10 ng/mL (以 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 储存液稀释 1:100,000 至 1:500,000 倍)

【操作步骤】

进行蛋白质印迹操作流程

1. 将印记膜从蛋白转印设备中取出，加入合适的封闭液在温室下孵育 20-60 分钟，同时振荡。
2. 将膜从封闭液中取出，与一抗工作液在室温孵育 1 小时，同时振荡或在 2-8 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜，不振荡。

3. 用适当的缓冲液充分洗涤印迹膜。（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 分钟，更换洗涤缓冲液并重复该步骤 4-6 次。增加洗涤缓。
4. 冲液体积，洗涤次数和洗涤时间有助于降低背景信号。）
5. 用 2-10 ng/mL 二抗孵育印迹膜约 30-60 分钟。
6. 重复步骤 3，以除去未结合的 HRP 标记二抗（膜与 HRP 标记二抗孵育后必须进行彻底洗涤）。
7. 通过混合等份的本产品溶液 A 和本产品溶液 B 来制备发光工作溶液。每平方厘米印记膜使用 0.01-0.1mL 发光工作溶液。已配制的工作溶液在室温下可稳定保存 8 小时。（注：暴漏于日光或任何其他强光下可能损害工作液，为获得最佳结果，将此工作液保存在琥珀色瓶中，并避免长期暴漏于任何强光，实验室的常见照明不会损害工作液的稳定性。
8. 将印迹膜置于新配置的工作溶液中孵育 5 分钟。
9. 去除多余的工作溶液。
10. 将印迹膜放在透明的塑料包装或薄片保护膜中，去除气泡。
11. 将印迹暴露于 X 射线胶片或成像系统。