SuperFemto ECL Chemiluminescence Kit

E423

Version 23.1

产品概述

本试剂盒以化学发光方法检测蛋白质或核酸类生物大分子，可通过辣根过氧化物酶(HRP)实现目的蛋白或核酸的免疫印迹检测。本试剂盒包含增强型的鲁米诺底物和稳定的过氧化物体系，在灵敏度检测方面有显著提升，能检测低至飞克级的微量蛋白。印迹膜(如NC、PVDF)经过ECL工作液孵育后，可用X光胶片曝光，也可以直接进行CCD扫描拍照。

产品组分

组 分	E423-01 (100 ml)	E423-02 (500 ml)
Femto ECL Substrate A	50 ml	250 ml
Femto ECL Peroxide B	50 ml	250 ml

保存条件

2 ~ 8℃避光保存，根据不同目的地调整运输方式。

适用范围

本试剂盒适用于Western Blot、EMSA等基于HRP标记的抗体或核酸探针的蛋白和核酸印迹检测。

注意事项

本产品仅供科学研究使用，不得用于临床医学诊断及其他非合理用途。

1. ECL工作液配制过程中吸取Femto ECL Substrate A液和Femto ECL Peroxide B液时请务必更换枪头，工作液新鲜配制后应立即使用，室温放置数小时后仍可使用但灵敏度略有降低。
2. 由于本产品发光液极其灵敏，推荐大多数进口抗体起始浓度为一抗1:1,000 - 1:4,000，二抗1:5,000 - 1:10,000。抗体浓度过高可能造成高背景或因条带过曝产生反白现象。可根据目的蛋白丰度选择合适的ECL发光检测试剂盒，General ECL Chemiluminescence Kit (Vazyme #E421)，SuperPico ECL Chemiluminescence Kit (Vazyme #E422)。
3. ECL发光液是HRP的显色底物，因此检测系统最终必须基于HRP标记的抗体或者核酸探针。
4. 应使用高质量保鲜膜。质量较差的保鲜膜可能会淬灭荧光或由于含有杂质而污染印迹膜造成曝光背景值偏高。
5. 根据目的蛋白丰度不同，曝光时间可能是数秒至数小时。曝光时间不足会导致目的条带不明确，曝光时间过长会使背景加深。
6. 叠氮化钠(NaN_3)能抑制HRP活性，若回收HRP标记的探针或者抗体应避免使用NaN_3，如需使用请勿超过0.01%。
7. Femto ECL Peroxide B液含有氧化剂，易被还原而失效，使用后请盖紧瓶盖，以防失效。
8. 使用本试剂盒时注意有效防护，为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

实验流程

1. 使用合适的方法进行Western Blot实验，直至用PBST/PBS或TBST/TBS洗涤二抗。
2. 新鲜配制ECL工作液：Femto ECL Substrate A液和Femto ECL Peroxide B液按1:1混合后即为ECL工作液。ECL工作液使用量大约为70 μl/cm^2 膜或根据个人实验习惯使用。
3. 用平头镊取出印迹膜，搭在滤纸上沥干洗膜液但勿使膜完全干燥。将ECL工作液均匀滴加至印迹膜上，确保完全均匀覆盖，室温孵育1 min。如果待检测蛋白丰度很高，请尽量不要让发光液处于静止状态，以免局部反应过快影响检测信号的线性范围。
4. 用平头镊夹住印迹膜，垂直置于滤纸上数秒吸掉多余ECL工作液。
5. 快速将印迹膜置于二层保鲜膜之间，尽量赶尽气泡。
6. X光胶片曝光：将印迹膜蛋白面朝上，放于X光胶片暗盒内，用透明胶带粘贴边缘固定。根据显色情况选择适当曝光时间，显影定影。也可选择不同时间多次曝光，以达更佳效果。
7. CCD成像：无需置于保鲜膜中，可直接按照成像仪使用说明进行拍照。