

ECL Femto 化学发光液（飞克型）

产品概述：

本试剂盒是一款通过化学发光方法检测蛋白质，具有高灵敏度的增强型化学发光底物。可通过与二抗上偶联的辣根过氧化物酶（horseradish peroxidase, HRP）发出荧光，从而通过 X 光片或其他化学发光成像设备检测样品，在免疫印迹分析过程中实现飞克级的蛋白检测（ $<1 \times 10^{-15}$ g）。

产品组分：

产品名称	产品编号	规格（100mL）	规格（500mL）
ECL Femto 化学发光液A液	NGB003S	50mL	250mL
ECL Femto 化学发光液B液	NGB003M	50mL	250mL

储存条件：

4°C保存，≤0°C运输。有效期一年。

产品特点：

- 灵敏度高：检测硝化纤维素膜或 PVDF 膜上飞克级的蛋白条带。
- 信号持续时间长：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。
- 性能稳定：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。

注意事项：

- ECL 工作液配制过程中吸取 A 液和 B 液时务必更换吸头，工作液新鲜配制后应立即使用，放置过久会影响检测灵敏度。
- 各溶液使用后，请盖紧瓶盖，以防失效。特别是 B 液，含有氧化剂，比较容易被还原而失效。
- 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。
- 推荐大多数进口抗体起始浓度为一抗 1:5000 ~ 1:10000，二抗 1:10000 ~ 1:15000。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。
- 印迹条带能够持续输出 6~8 h 的可检测光信号。
- 叠氮化钠（NaN₃）能抑制 HRP 活性，若回收 HRP 标记的探针或者抗体应避免使用 NaN₃。
- 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. 配制 ECL 工作液：ECL Femto 化学发光液 A 液与 ECL Femto 化学发光液 B 液按照 1:1 混合后即为 ECL 工作液。ECL 工作液使用量大约为 10 ~ 100 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ 膜或根据个人实验习惯使用。工作液宜在临检测前配制。

注：暴露于日光或其他强光下可能损害工作液，因此请注意将工作液避光保存。实验室的常见照明不会损害工作液。

3. 用 WB 专用平头镊夹住边缘将印记膜从洗涤缓冲液中取出，置于胶片暗盒中，蛋白面朝上，滴加 ECL 工作液至印记膜被全部覆盖，室温孵育 5 min。

4. 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，并从印记膜和塑料纸之间小心地压出气泡。蛋白面朝上，即可进行压片检测或化学发光成像仪检测。

注：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 ~ 30min 期间是强烈的。印迹条带能够持续输出 6 ~ 8 h 的可检测光信号，但强度会随时间下降，若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。