

HRP 膜发光底物 *FE* HRP Blotting *Femto ECL*

HRP Blotting *Femto ECL* 为超敏增强型化学发光底物，用于 Western Blot 中检测低飞克级蛋白。与其他市售底物相比，本产品可提供极高水平的灵敏度和极佳的信噪比。

目录号 Art no: ECMF-0100/ 0500/ 1000

包装规格 Package size: 100mL/ 500mL/ 1000 mL

试剂组分 Components:

试剂 A: Art no: ECMF-A, 增强型鲁米诺溶液 (Enhanced Luminol Solution)

试剂 B: Art no: ECMF-B, 稳定过氧化物溶液 (Stabilized Peroxide Solution)

保质期 Shelf life: 3 years

储 存 Storage: 2-8°C

应 用 Application: Western Blot 按 1: 1 预混后使用。

产品特点 Characteristics:

- ① 灵敏度高：低飞克级
- ② 稳定性好：4°C 下，工作溶液可保持稳定 8 h
- ③ 兼容性好：硝酸纤维素和 PVDF 膜
- ④ 信号持续长：长达 8 小时
- ⑤ 一抗稀释浓度：1:5000~1:100000 (质量浓度：10~200 ng/mL)
- ⑥ 二抗稀释浓度：1:100000~1:500000 (质量浓度：2~10 ng/mL)

用法说明 Instruction:

使用底物进行 Western Blot 检测：

1. 清洗膜

蛋白质转移后，将印迹膜转印装置中取出，用去离子水洗涤膜 5 分钟，去除转移缓冲液。

2. 封闭膜

用 DuraBlot™ Western Blot 封闭液 (如 1×酪蛋白封闭液、1×无蛋白封闭液) 在室温下摇晃封闭 30-60 分钟。或者，在 2~8°C 下静止封闭过夜。

3. 孵育一抗

用一抗稀释液(或封闭液)稀释一抗浓度至 1:5000~1:100000 (质量浓度：10~200 ng/mL) (或按照厂家推荐的稀释度)，在膜上摇动孵育 1 小时，或将印迹在 2-8°C 下孵育过夜。

4. 洗涤膜

用洗涤液 TBST、PBST 或其他含有 0.05% Tween 20 的缓冲液清洗膜 10 分钟，重复洗涤 2 次。

5. 孵育酶标二抗

用酶标二抗稀释液稀释酶标二抗浓度至 1:100000~1:500000 (质量浓度：2~10 ng/mL)，在室温下摇动孵育印迹 30 分钟至 1 小时。

6. 清洗膜

用洗涤液清洗膜 6 次，每次 5 分钟，以彻底去除任何未结合的酶标抗体。

7. 准备底物

通过混合等量的底物 A 和稳定的过氧化物 B 成分来制备底物工作液(如将 5 毫升增强型

鲁米诺溶液与 5 毫升稳定过氧化物溶液混合)。使用足够体积的底物以确保印迹膜被底物完全润湿，并且印迹不会变干(0.1 mL/cm²)。

8. 底物孵育

将膜与底物工作液孵育反应 5 分钟。

9. 膜成像

- ① 从工作溶液中取出印迹，并将其置于塑料保护套或透明塑料膜中；
- ② 用无尘吸水纸除去多余的液体，并小心地压出印迹膜上的气泡；
- ③ 使用成像系统对印迹进行成像。

注意：本产品用于检测非常敏感，必须非常仔细的优化单个分析成分(抗体，偶联物等)，以尽量减少非特异性反应导致本底过高。