



优化膜再生液(抗体去除液, 酸性)

货号: c1082A

规格: 500ml

酸碱度: pH=3

保存温度: 室温, 一年有效。温度过低可能出现浑浊。

描述:

允许对同一张膜进行多次 Western Blot 检测。在室温条件下, 将用过的膜浸泡在膜再生液中 30 分钟, 能够选择性清除与膜抗原结合的第一抗体及第二抗体, 但不影响电转移到膜上的蛋白。随后, 可以使用不同的抗体进行下一轮 Western Blot 实验。因而可利用同一张膜进行多次蛋白检测。不仅适宜用少量样品多次检测多种不同蛋白, 即使样品量并不匮乏, 采用这种多次检测同一张膜上的蛋白的策略, 能省去给药处理、蛋白电泳和膜转移等耗费性步骤。

操作步骤:

1. 将膜充分浸泡于适当体积的再生液中, 室温孵育 15~30 分钟并不时晃动。孵育时间的长短应参考后面的说明进行优化。洗脱某些抗体需要较长的时间如 30~60 分钟。
2. 用镊子取出膜, 用自备 Western Blot 洗涤缓冲液或封闭洗涤缓冲液(C1056)淋洗膜一次, 再洗膜 5 分钟。
3. 此时膜上抗体已去除, 膜已再生。用脱脂奶粉或 BSA 封闭, 进行下一轮 Western Blot 实验。

说明:

1. 膜再生或 Stripping 的实质是在不影响膜上结合的抗原的条件下, 将与抗原分子结合的一抗和二抗洗脱下来。有许多因素影响抗体从膜上的洗脱, 如膜的类型、抗体类型和浓度及其与抗原结合特性等。按下面的说明优化再生液中孵育膜的时间至关重要。
2. 确定膜上抗体是否去除与优化再生液中孵育膜的时间: 用 ECL 工作液孵育再生后的膜约 1 分钟, 然后进行 X 光胶片曝光并显影, 可确定膜上的抗体是否完全去除。如显示条带, 表明抗体未完全去除, 应继续将膜浸泡在再生液中孵育 30~60 分钟。然后再次 ECL 检查膜上抗体是否去除。重复此步骤直到抗体完全去除并确定最佳孵育时间。
3. 由于至今尚不清楚的原因, 使用脱脂奶粉封闭的膜要比使用 BSA 封闭的膜上的抗体更容易被 Strip 下来。因此准备进行 Strip 的膜, 应该使用脱脂奶粉而不是 BSA 封闭。
4. 尽量避免使用干燥保存的膜, 因为干的膜上的抗体很难被 Strip 干净。