

版本号: PA121221

# Western Blot Stripping Buffer

## Western Blot蛋白印记膜再生液

目录号: PA114

### 产品内容

目录号	产品名称	包装
PA114	Western Blot蛋白印记膜再生液 (Western Blot Stripping Buffer)	100 ml

### 储存条件

该试剂盒置于室温（15-25℃）干燥条件下可保存12个月。

### 产品简介

蛋白印记膜再生液，用于Western Blot中转移了蛋白的膜的重复利用。在Western Blot中完成了一抗二抗结合和后续的化学发光检测后，有时还需要检测其它蛋白进行比较。蛋白印记膜再生液中的特殊成份可解离膜上抗原与抗体的结合，但不影响转移到膜上的蛋白，随后，可以使用不同的抗体进行下一轮Western Blot实验检测其它蛋白。当需要进行多次蛋白检测时，采用本方法与重新电泳、转膜相比，不仅节省样品、材料和时间还可以消除重新上样带来的误差，增强试验的可比性。

---

## 产品特点

1. 传统分子克隆上介绍的方法对抗原洗脱强度过大，常常会导致蛋白信号的减弱，但是本蛋白印记膜再生液效力强，但是对蛋白作用温和。
2. 本品不含有 $\beta$ -巯基乙醇，无毒无味，操作简单快速，室温保存和使用。

## 适用范围

已转移了蛋白的硝酸纤维素膜或PVDF膜

## 自备材料

1. 用化学发光法检测的已转移了蛋白的硝酸纤维素膜或PVDF膜;
2. 洗涤缓冲液PBS或者TBS;
3. Western Blot试剂一抗和二抗;
4. 化学发光检测试剂。

## 操作步骤

1. 将膜充分浸入适当体积的蛋白印记膜再生液中，室温孵育15-30 min并摇动。

**注意：**优化孵育时间和温度可以获得较佳的结果，通常，高亲和力的抗体将会需要更长的洗膜时间如30 min以上，在37℃孵育会获得较好效果。

2. 用镊子取出膜，用洗涤缓冲液PBS或TBS冲洗膜一次，然后摇动洗涤5-10 min。
-

---

检测抗体是否去除的方法如下：

- 1) 检测是否完全去除HRP标记二抗：将洗后的膜进行X光胶片曝光并显影，如果胶片上没有显示条带，说明二抗已经成功地从抗原或者一抗上去除；
- 2) 检测是否完全去除一抗：将膜孵育在HRP-标记的二抗中，用洗涤缓冲液洗涤，X光胶片曝光并显影，胶片上没有显示条带，说明一抗已经去除。
4. 如果步骤3检测到信号则需重复步骤1，再次洗涤5-15 min。

**注意：**许多抗原抗体系统需要增加温度或者延长时间才能完全去除。优化洗膜时间和温度来确保完全去除抗体而不破坏抗原。

5. 在确定膜上抗体已经完全洗掉后，重新封闭，即可以进行下一轮Western Blot实验。

## 注意事项

1. 膜可以进行多次Western Blot，但也许会需要更长的曝光时间或者更灵敏的化学发光试剂。
  2. 需要重复利用的膜最好浸泡在PBS或TBS缓冲液中，保存于4°C，干燥的膜上的抗体较难被洗掉。
  3. 需要重新利用的膜采用脱脂奶粉封闭会比采用BSA封闭更容易洗脱抗体。
  4. 许多因素可以影响抗原和抗体的结合，如抗体种类、浓度以及与抗原结合力的强弱、膜的类型等，优化孵育时间会获得较佳的结果。
-

---

---