



## Western 膜再生液 (Stripping Buffer)

### 产品简介

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30-60 分钟, 可在不影响抗原蛋白的情况下清除膜上结合的抗体。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。适宜从少量样品多次检测多种不同蛋白质。即使样品量并不匮乏, 采用这一策略多次检测同一张膜上的蛋白, 能省去给药处理、蛋白电泳和膜转移等耗费性步骤。

### 储存和稳定性

室温储存, 通常一年内有效。

### 实验步骤:

1. 在完成Western化学发光检测后, 将膜至于蒸馏水中漂洗5分钟。
2. 用TBST漂洗5分钟。
3. 将膜充分浸泡于适当体积的再生液中, 50°C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。
4. 用TBST漂洗6次, 每次5分钟。
5. 此时膜上抗体已去除, 膜已经再生。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洗脱, 如膜类型、抗体类型和浓度及其与抗原结合特性。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孵育膜的时间: 用ECL 荧光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。如胶片上显示条带, 表明抗体未完全去除, 应继续将膜浸泡在再生液中另外孵育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, 干的膜上的抗体很难被Strip 干净。
5. 本膜再生液是根据经典的配方改良而成, 经典可靠。再生液含有巯基乙醇, 实验步骤中的第四步漂洗次数不能减少, 以防止痕量的巯基乙醇对下一轮Western Blot的影响。或者选择本公司的酸性膜再生液。