



北京艾德莱生物科技有限公司

Aidlab Biotechnologies Co., Ltd

- ◆ 蛋白印迹膜再生液/抗体剥离液
- ◆ 目录号 PP07
- ◆ 使用手册
- ◆ 实验室使用，仅用于体外

❖ **产品组成、储存、稳定性:**

产品组成	保存	PP0701	PP0702
Strong Buffer	室温	250 ml	400 ml
Mild Buffer	室温	250 ml	400 ml

本产品收到后按照上面指示温度存放，12 个月内有效。

本品选购时可以选择全部为 Strong Buffer 或者 Mild Buffer

❖ **产品介绍:**

蛋白印迹膜再生液，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、Actin、Tubulin 等表达量相对稳定的蛋白作为参照，或检测其它蛋白进行比较。通过使用蛋白印迹膜再生液中特殊成份解离一抗二抗和印迹膜上抗原的结合从而去除一抗二抗，即可非常方便地重新利用同一张膜检测其它蛋白。与重新跑一个 SDS-PAGE 胶，不仅省时省力，而且可以消除重新上样而带来的误差，使可比性更强。

❖ **产品特点:**

1. 理想的再生液应该是洗脱一抗二抗的同时，不洗脱膜上结合的蛋白（抗原），或者改变抗原的结合性质，但是目前没有一种再生液可以做到只洗脱一抗二抗，而完全不洗脱膜上结合的抗原。也没有一种再生液可以适用于所有不同亲和度的抗原抗体复合物，太强，则抗原也容易被洗脱；太弱，则一抗二抗残留太高。本试剂盒配备了两种适用不同亲和力抗原抗体复合物的配方（Strong buffer 和 Mild buffer），用户可以根据自己抗原抗体结合强度选用。
2. 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，本再生液为本公司独有的配方，效力强，但是对蛋白作用温和，经过多个抗体的检测试验，通常可以重复利用膜 5 次或者更多。

3. 不含有常用的 β -巯基乙醇，没有异味，操作简单快速，室温进行，最快 15-20 钟就可以完成全过程。

❖ **注意事项：**

1. 本试剂盒里面包括两种配方的再生液（strong buffer 和 mild buffer），大家可以根据自己使用抗体和抗原的亲合度选用，但是两种再生液不可以混合在一起使用。
2. 再生液使用后应该立刻盖紧盖子，避免长时间和空间接触导致 pH 和质量改变，影响使用效果。**Mild buffer** 外观有少许乳白浑浊析出，此为正常现象，可 37℃ 水浴几分钟，混匀后使用即可。
3. **Strong buffer** 有轻度腐蚀性，为了您的安全，请带乳胶手套操作，如果不小心溅入眼睛，请用大量清水冲洗。
4. 为了达到最佳效果，推荐使用 PVDF 膜，尤其 strong buffer 对 PVDF 膜效果更好。
5. 适用于 ECL 和类似的化学发光试剂进行的 Western 检测。不适用于非化学发光试剂进行的 Western 检测，例如 DAB，NBT/BCIP。
6. 需要再生的膜如果干了，则洗脱效率非常低，因此如果决定要做膜再生，应该**做完底物化学发光后，立刻将湿润状态的膜放入 PBS 中 4℃ 保存直到开始再生过程。**
7. 在实践应用中，我们发现有时候部分亲和力很弱的抗原抗体，用 strong buffer 效果反而比 mild buffer 差，有时候亲和力很强的抗体，用 mild buffer 效果却更好。因此，实际过程中，亲和力强的抗体，即使 strong buffer 效果不好，也一定要试试 mild buffer 是否效果更好。



❖ **操作步骤：**（实验前请先阅读注意事项）

1. Mild Buffer（温和再生液）操作步骤

- 1) 在合适大小的容器内将膜完全浸入 20ml 的 Mild Buffer 中，室温孵育一个小时(或者换液一次，2×30 分钟)。

对于低亲和力的抗原抗体复合物，半小时就够了；对于高亲和力，可适当延长时间或者提高孵育温度或者在摇床上轻摇，最佳条件应该实验中调整优化。

- 2) 用 PBS 漂洗 2×5 分钟。

- 3) 重新封闭后便可以进行 Western blot 的后续操作。

大多数情况并不需要重新封闭，您可以自己选择是否冒一些风险省略封闭的步骤。

2. Strong Buffer(强力再生液)操作步骤

- 1) 将膜在蒸馏水中漂洗浸泡 5 分钟。

- 2) 弃蒸馏水，将膜完全浸入 20ml 的 Strong Buffer 中，摇床上轻摇 5 分钟。

对于很强的抗原抗体复合物，应该适当延长时间或者提高孵育温度，最佳条件应该实验中调整优化。

- 3) 弃 Strong Buffer，漂洗后浸泡入蒸馏水中，摇床上轻摇 5 分钟。

- 4) 膜可以进行封闭和后续的 Western blot 操作了。

