

膜再生液(Stripping Solution) P1650

描述: 膜再生液, 也称做抗体剥离液体、一抗二抗去除液。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, 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。

特点: (1) 无毒无味无害, 室温保存和使用;
(2) 可对同一张膜进行 10 次以上的 Western Blot 检测。

适用: 硝酸纤维素膜或 PVDF 膜。使用前膜可以保存在 PBS 或 TBS 缓冲液, 也可以室温干燥保存数月。干的 PVDF 膜应该先用甲醇泡 5 分钟。

安全性: 无毒无味。按照普通化学品安全规范进行操作和处置。

储存: 室温保存, 一年有效。温度过低可能出现浑浊。

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 洗涤缓冲液或普利莱封闭洗涤缓冲液 (B1009) 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。

部分使用普利莱膜再生液发表的SCI文章, 供参考:

- 1、Zhao X, Gao M, He J, et al. Perilipin1 Deficiency in Whole Body or Bone Marrow-Derived Cells Attenuates Lesions in Atherosclerosis-Prone Mice[J]. PloS one, 2015, 10(4).
- 2、Deng J, Liu S, Zou L, et al. Lipolysis response to endoplasmic reticulum stress in adipose cells[J]. Journal of Biological Chemistry, 2012, 287(9): 6240-6249.
- 3、Wang J Y, Xia Q, Chu K T, et al. Severe global cerebral ischemia-induced programmed necrosis of hippocampal CA1 neurons in rat is prevented by 3-methyladenine: a widely used inhibitor of autophagy[J]. Journal of Neuropathology & Experimental Neurology, 2011, 70(4): 314-322.
- 4、Jia C, Zhu W, Ren S, et al. Comparison of genome-wide gene expression in suture-and alkali burn-induced murine corneal neovascularization[J]. Molecular vision, 2011, 17: 2386.
- 5、Huang M, Liu X, Du Q, et al. Inhibitory effects of sunitinib on ovalbumin-induced chronic experimental asthma in mice[J]. Chin Med J (Engl), 2009, 122(9): 1061-1066.
- 6、Zhang T, He J, Xu C, et al. Mechanisms of metformin inhibiting lipolytic response to isoproterenol in primary rat adipocytes[J]. Journal of molecular endocrinology, 2009, 42(1): 57-66.
- 7、Zhang G R, Cheng X R, Zhou W X, et al. Age-related expression of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II A in the hippocampus and cerebral cortex of senescence accelerated mouse prone/8 mice is modulated by anti-Alzheimer's disease drugs[J]. Neuroscience, 2009, 159(1): 308-315.