

製品コード T7135A

研究用

Takara

Western BLoT Stripping Buffer

説明書

v201510Da

Western BLoT Stripping Buffer は、ウェスタンブロットを行ったメンブレン上の一次抗体および二次抗体を除去するための Buffer です。化学発光検出を行ったメンブレンを再使用して、抗体の濃度検討や、異なる一次抗体による再検出が可能になります。

本製品とメンブレンを、比較的温和な条件下（室温、30分）で反応することにより、メンブレンから抗体を剥がすことができます。この条件では、メンブレン上に固定された抗原タンパク質に影響が少ないため、PVDF膜を使用した場合、同じメンブレンのストリッピングとリブローブを2～5回繰り返すことが可能です。

I. 内容 Western BLoT Stripping Buffer 500 ml

II. 保存 室温

III. キット以外に必要なもの

1. 化学発光法でウェスタンブロット検出を行ったメンブレン
Western BLoT HRP Substrate シリーズ（製品コード T7101A～T7104A）を用いてウェスタンブロット検出したメンブレンに用いるのに適しています。
2. 洗浄バッファー（TBS-T または PBS-T：0.05% Tween 20 を含む TBS または PBS）
以下の製品を使用すると簡単に調製ができます。
 - ・ Tris Buffered Saline with Tween 20 (TBS-T) Tablets, pH7.6（製品コード T9142）
 - ・ Phosphate Buffered Saline with Tween 20 (PBS-T) Tablets, pH7.4（製品コード T9183）
3. ロータリーシェーカー
インキュベーション中にメンブレンを振盪するために使用。
4. ウェスタンブロット検出に必要な試薬（一次抗体、標識二次抗体、化学発光検出試薬など）
5. CCDカメラもしくはX線フィルム、フィルムカセット、現像液、定着液など
化学発光の検出、オートラジオグラフィーに使用。

IV. 操作上の注意

本製品を使用する場合の注意事項です。使用前に必ずお読みください。

1. 本製品は、化学発光検出を行ったメンブレンに使用します。TMB、DAB等の発色基質を用いて検出したメンブレンには対応していません。
2. 抗原との親和力が強い抗体を剥がす場合、完全にストリッピングできない場合があります。
3. 一度検出を行ったメンブレンは、TBS-TもしくはPBS-Tに浸して乾燥させないように注意してください。本製品は、TBS-TもしくはPBS-Tに浸して4℃で保存したメンブレンをストリッピングすることも可能です。
4. 本製品は、低温で保存することによって白色の沈殿が生じる場合があります。その場合は、ボトルを37℃の水浴で温めた後、軽く振って沈殿を完全に溶解させてから使用してください。
5. 本製品は、酸性であり、腐食性があります。使用時は、白衣、安全ゴーグル、グローブを必ず着用してください。

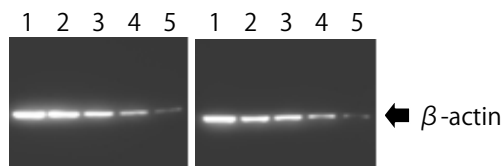
V. 操作

1. 化学発光検出を行ったメンブレンを洗浄バッファー（TBS-T または PBS-T）に浸し、5分間洗浄する。
2. メンブレンを本製品に浸し、室温で15～30分軽く振盪して、抗体をストリッピングする。本製品の使用量の目安は、0.25 ml/cm² メンブレンであるが、振盪中にメンブレンが常にバッファーに浸るよう十分量を使用する。
3. ストリッピング終了後、メンブレンを洗浄バッファーに浸し、5分間洗浄する。
4. 新しい抗体で検出を行う。

VI. 実験例

Western Blot Chemiluminescence HRP Substrate (製品コード T7101A) を用いてウェスタンブロット検出した PVDF メンブレンを使用して、本製品による抗体のストリッピングとリプローブを繰り返し行った。コントロールとして本製品の代わりに TBS-T を用いて反応を行った。

1. β -actin の検出 (1 回目の抗原・抗体反応)



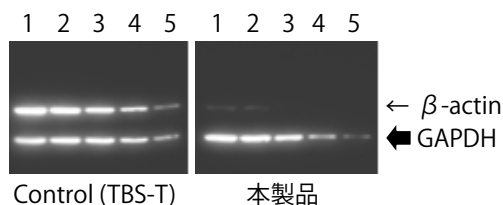
1 : HeLa Cell Lysate 10.000 μ g
2 : HeLa Cell Lysate 5.000 μ g
3 : HeLa Cell Lysate 2.500 μ g
4 : HeLa Cell Lysate 1.250 μ g
5 : HeLa Cell Lysate 0.625 μ g

メンブレン : PVDF membrane
ブロッキング剤 : Skimmed milk/TBS-T、
室温、60 分
洗浄バッファー : TBS-T
一次抗体 : anti- β -actin (mouse IgG)
二次抗体 : anti-mouse IgG-HRP

ストリッピング

(条件 : 室温、30 分、0.25 ml/cm² メンブレン)

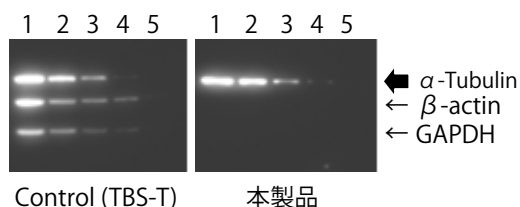
2. GAPDH の検出 (2 回目の抗原・抗体反応)



洗浄バッファー : TBS-T
一次抗体 : anti-GAPDH (mouse IgG)
二次抗体 : anti-mouse IgG-HRP

ストリッピング (条件 : 室温、30 分、0.25 ml/cm² メンブレン)

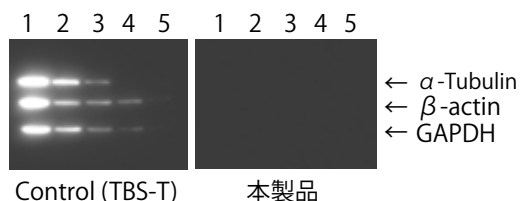
3. α -Tubulin の検出 (3 回目の抗原・抗体反応)



洗浄バッファー : TBS-T
一次抗体 : anti- α -Tubulin (mouse IgG)
二次抗体 : anti-mouse IgG-HRP

ストリッピング (条件 : 室温、30 分、0.25 ml/cm² メンブレン)

4. 残存抗体の検出



洗浄バッファー : TBS-T
二次抗体 : anti-mouse IgG-HRP

VII. 関連製品

Western BLoT Chemiluminescence HRP Substrate (製品コード T7101A/B)
Western BLoT Quant HRP Substrate (製品コード T7102A/B)
Western BLoT Hyper HRP Substrate (製品コード T7103A/B)
Western BLoT Ultra Sensitive HRP Substrate (製品コード T7104A/B)
Western BLoT Immuno Booster (製品コード T7111A)
Western BLoT Immuno Booster PF (製品コード T7115A)
Western BLoT Rapid Detect (製品コード T7121A)
Tris-Glycine-SDS Buffer (TG-SDS) Powder, pH8.3 (製品コード T9101)
Tris-Glycine Buffer (TG) Powder, pH8.3 (製品コード T9102)
CLEARLY Protein Ladder (Unstained) (製品コード 3453A/B)
CLEARLY Stained Protein Ladder (製品コード 3454A/B)
Phosphate Buffered Saline with Tween20 (PBS-T) Tablets, pH7.4 (製品コード T9183)
Tris Buffered Saline with Tween20 (TBS-T) Tablets, pH7.6 (製品コード T9142)
Western BLoT Blocking Buffer (Fish Gelatin) (製品コード T7131A)
Western BLoT Blocking Buffer (Protein Free) (製品コード T7132A)

VIII. 注意

- 本製品は、研究用試薬です。ヒト、動物への医療、臨床診断には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
- タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
- ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。
- 本説明書に記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。

製品についての技術的なお問い合わせ先

Takara テクニカルサポートライン

Tel 077-565-6999 Fax 077-565-6995

ホームページアドレス <http://www.takara-bio.co.jp/>

タカラバイオ株式会社