

EZ-Western Stripping Buffer

Cat. No. DG-WSB500

FOR RESEARCH USE ONLY.

NOT FOR USE IN DIAGNOSTIC PROCEDURES.

▪ Product Description

Stripping Buffer는 Western Blot 실험 수행 시 Transfer-membrane (NC, PVDF)에 붙어 있는 일차/이차 항체(Primary/Secondary antibodies)를 제거하는데 사용되는 buffer 입니다. 제한된 샘플을 이용한 실험 시 분자량이 동일한 하나 이상의 단백질을 확인 할 때 유용하게 사용할 수 있으며, 여러 번의 전기영동 및 blotting 실험을 수행하지 않고 단백질을 확인 할 수 있어 샘플 및 시간을 절약할 수 있는 장점을 가집니다.

EZ- Western Stripping Buffer는 affinity chromatography의 원리를 이용하여 membrane의 단백질 (antigen)의 변성과 손실을 최소화하면서 항원-항체 결합을 효과적으로 분리할 수 있는 제품입니다.

▪ Contents

Component	Volume
EZ-Western Stripping Buffer	500 ml

▪ Storage and Stability

2 ~ 8 °C에서 냉장 보관하며, 제조일로부터 1년간 안정합니다.

▪ General Protocol

- Membrane은 Stripping을 하기 전 TBS-T 또는 PBS-T에 넣어 4 °C에 보관합니다.
 - Membrane이 건조될 경우 antigen이 변성되어 실험에 사용하실 수 없습니다.
1. 냉장보관 되어있는 EZ-Western Stripping Buffer를 사용 전 실온에 꺼내어 차가운 상태를 없애줍니다.
 2. EZ-Western Stripping Buffer를 membrane이 완전히 잠기게 넣고, 실온에서 15~30 min incubation 합니다.
 - 8 X 10 cm membrane의 경우 20 ml ~ 25 ml buffer 사용합니다.
 - Binding이 강한 anti-body의 경우 shaking 해주거나 37 °C에서 incubation 합니다.
 - PVDF membrane은 stripping buffer를 넣으면 membrane이 투명하게 보입니다.

3. Incubation이 끝난 후 membrane을 TBS-T 또는 PBS-T로 washing 합니다.
 - 50 ~ 100 ml 사용하여 5 min 정도 shaking 해줍니다. (2 ~ 3회 반복)
 - PVDF membrane의 경우 투명성이 없어질 때까지 washing해 줍니다.
4. Antibody가 제거되었는지 확인합니다.
 - 1) HRP label reagent 제거 확인
 - ① Stripping 한 membrane에 ECL substrate 처리 후 film 혹은 Image 장비에 exposure시킵니다.
 - ② 5 분간 exposure 후 signal이 없다면 HRP가 붙어 있는 reagent가 제거된 것입니다.
 - 2) Primary antibody 제거 확인
 - ① HRP-labeled secondary antibody 처리 후 ECL substrate를 이용해 detection 합니다.
 - ② 5 분간 exposure 하여 film 혹은 이미지 장비에서 signal이 확인되지 않는다면 antigen에서 primary antibody가 제거된 것입니다.
5. Antibody 확인 후 signal이 감지된다면, EZ-Western Blot Stripping Buffer를 넣고 5 ~ 15 min 더 반응시킵니다.
 - Shaking을 해주면 효율이 더 좋습니다.
6. Stripping 이후 단계는 일반적 immuno-blot 과정을 진행합니다.
 - Blocking 단계부터 진행하시면 됩니다.

▪ Notice

1. 특정 antigen/antibody의 경우 binding affinity가 강하여 incubation 온도를 높여주거나 시간을 늘려서 진행하시면 됩니다.
2. Membrane은 strip 과 re-probe 과정을 반복할 수 있지만, strip과정에서 antigen도 일부 손실이 되기 때문에 처음 반응보다 민감도가 떨어질 수 있습니다.
이때, 민감도가 높은 ECL substrate 사용하거나, exposure time을 길게 진행해야 합니다.

▪ Related Product

I. EZ-Western series

: Western blot detection kit (ECL solution) and others

Product	Catalog No.	Size
EZ-Western (Nano~mid picogram)	DG-W100	100 mL (A: 50 mL + B: 50 mL)
	DG-W250	250 mL (A: 125 mL + B: 125 mL)
	DG-W500	500 mL (A: 250 mL + B: 250 mL)
EZ-Western Lumi Pico (Low picogram)	DG-WP100	100 mL (A: 50 mL + B: 50 mL)
	DG-WP250	250 mL (A: 125 mL + B: 125 mL)
	DG-WP500	500 mL (A: 250 mL + B: 250 mL)
EZ-Western Lumi Pico Alpha (Fast Detection)	DG-WPAL120	120 mL (A: 60 mL + B: 60 mL)
	DG-WPAL250	250 mL (A: 125 mL + B: 125 mL)
EZ-Western Lumi La (Mid femtogram, Long duration)	DG-WD100	100 mL (A: 50 mL + B: 50 mL)
	DG-WD200	200 mL (A: 100 mL + B: 100 mL)
EZ-Western Lumi Femto (Low femtogram)	DG-WF100	100 mL (A: 50 mL + B: 50 mL)
	DG-WF200	200 mL (A: 100 mL + B: 100 mL)
EZ-Gel Staining Solution	DG-GS1000	1000 mL (Without De-stain)
EZ-BCA Protein Quantification Kit	DG-BCA500	Reagent A: 500 mL
		Reagent B: 25 mL Standard Sol.: 1 mL X 10
EZ-Bradford Assay Dye Reagent	DG-BRA500	Bradford Reagent: 500 mL
		Standard Sol.: 1 mL X 10

II. Protein marker

Catalog No.	Product	Qty.
DG-PMC245	3-Color Regular Range Protein Marker, 10-245kDa	250µL x 2
DG-PMP245	3-Color Broad Range Protein Marker PLUS, 5-245kDa	250µL x 2