

<一次抗体反応後の wash>

- 1) 1×TBST をタッパーに入れる。
ハイブリパックをメンブレンを切らないように開封し、
袋の口をねじる様にして開ける。
- 2) ピンセットでメンブレンを取り出してタッパーに入れる。
- 3) メンブレンを 1 回すすぐ。
- 4) 1×TBST を変えて wash
(shake 15min×3~4 回、約 1 時間)

<二次抗体反応>

1) チューブに二次抗体 (5ml) を作製し、wash の終了したメンブレンを入れる。

※メンブレンはラベルした面を内側にしてらせん状に入れる。

(二次抗体をメンブレンにいきわたらせる様にするため。)

※チューブとメンブレンの間に気泡が入らないようにする。入っていたら押し出す。

(回転しているとはがれることがあるため。)

※メンブレンが小さくてチューブからはがれてしまう場合は小さいタッパーもしくはチップケースのふた等を使用しても良い。

この場合、二次抗体は 20ml 必要となる。

2) ローターで incubation 、1h

タッパーやチップケースを使用した際は shaker で。

② 1×TBST	5ml	20ml
②抗体	1 μl	4 μl

1/5000 にする

①→②の順に入れる。

<二次抗反応体後の wash>

- 1) タッパーに 1×TBST を入れる。
- 2) チューブからメンブレンを指で取り、タッパーへ入れる。
- 3) メンブレンをすすぐ。
- 4) 1×TBST を入れ替えて wash
(shake 15min×3~4回 1h)