

# WSE-7240 EzReprobe 사용설명서

## 1. 본 제품을 안전하게 이용하기 위한 주의사항

본 제품을 안전하게 사용하기 위해 우선 본 설명서를 잘 읽어주세요. 본 취급 설명서의 내용을 충분히 이해하기 까지 조작은 피해주세요. 또한 본 취급설명서는 본 제품을 지정 목적에 사용하는 방법만을 기재하고 있습니다. 본 사용설명서에 기재되어 있지 않는 목적, 사용으로는 이용하지 말아 주십시오. 만일, 본 사용설명서에 기재되어 있지 않은 목적, 방법으로 사용하신 경우, 필요한 안전대책 및 예측 불허한 사태에 대해서는 모두 조작하시는 분의 책임이 됩니다. 또한, 동시에 사용하는 장치의 설명서도 잘 읽고 숙지 후 사용해 주십시오.

## 2. 사용목적

본 제품은 Western Blotting 해석에 있어, 화학발광검출후 Blotting membrane으로부터 Antibody를 떼어낼 때 사용하는 Stripping 시약입니다.

## 3. 본 제품의 구성

| 명칭        | 용량    | 개수       |
|-----------|-------|----------|
| EzReprobe | 500mL | 1 bottle |
| Enhancer  | 3g    | 1 bottle |

## 4. 조성

| 명칭                 | 주성분        |
|--------------------|------------|
| Stripping Solution | 계면활성제, 완충액 |
| Enhancer           | 분말         |

본 제품은 PRTR법, 독극물단속법, 노동안전위생법의 제외 규정량을 초과하는 통지대상물은 포함하고 있지 않습니다.

## 5. 보관방법

- EzReprobe는 실온(20-30°C)보관입니다. 기온이 낮은 상태에서 보관하면 성분이 적출될 경우가 있습니다만, 품질에는 문제가 없습니다. 30°C 전후의 따뜻한 물에 담가 완전히 용해시킨 후에 사용하여 주십시오. 또한 미개봉 상태라면 사용기한 내에는 안정합니다.

-Enhancer 첨가후의 EzReprobe는 냉장(2~8°C)보관입니다. 성분이 적출될 경우가 있으므로, 실온에서 완전히 용해시킨 후에 사용하여 주십시오. 또한 냉장에서 약 2주간 안정합니다.

## 6. 폐기방법

- 각 시약의 폐기는 소속기관의 폐기방법에 준거하여 처리하여 주시기 바랍니다.

- 본 제품은 산성(pH 3.0) 용액입니다. 폐액할 시에는 사용완료의 Wash buffer(약 10배량)와 혼합하여 중화시켜 주십시오. 또는 1M Tris(pH 7.5)등을 1/10량 첨가하여 혼합, 중화후에 폐액하여 주십시오.

## 7. 본 제품 이외에 필요한 것

- 발광검출한 후의 Blotting membrane
- Tray
- Blotting membrane보다 크고, 흔드는 방향으로 자유롭게 움직이는 것이 가능한 사이즈
- Wash buffer(0.1% Tween 20 함유의 AE- 1480 EzWash, 혹은 TBS-T, PBS-T등)
- 목적 단백질에 대한 1차Antibody와 표지 2차Antibody
- 전기영동장치(WSE-1100 PageRun 등)
- seesaw shaker
- tweezers
- Chemilumi 검출(Stripping 효과의 확인 시)
  - \* 화학발광기질(WSE-7120 EzWestLumi plus등)
  - \* 검출장치( Ezcapture,LuminoGraph Series, X선 Film 등)

## 8. 사용상의 주의

\* 본 제품은 실온(20-30°C)보관하여 주십시오. 기온이 낮은 상태에서 보관하면 성분이 적출될 경우가 있습니다만, 품질에는 문제가 없습니다. 30°C 전후의 따뜻한 물에 담가 완전히 용해시킨 후에 사용하여 주십시오

\* Enhancer 첨가후의 EzReprobe는 냉장(2~8°C)에서 보관하여 주십시오. Enhancer 첨가후에는 냉장보관에서 약 2주간 안정합니다. 또한 냉장보관에 의해 성분이 적출될 경우가 있으므로, 실온에서 완전히 용해한 후에 사용하여 주십시오.

\* 본 제품은 산성(pH 3.0) 용액입니다. 폐액할 시에는 사용완료의 Wash buffer(EzReprobe량에 대해 약 10배량)와 혼합하여 중화시켜 주십시오.

\* 본 제품은 TMB등의 발색에 의해 검출한 Blotting membrane의 stripping에는 사용하지 않습니다.

\* Stripping의 효율은 Antibody의 Titer(Antibody의 힘값)이나 항원의 발현량에 의해 영향받습니다. Antibody가 잘 떨어지지 않는 경우에는 반응시간을 연장(30분에서 수시간), 혹은 고온(37~50°C)에서 처리하는 것으로 Stripping 효율이 올라갑니다. 그 때, 항원의 변성이 생기는 경우도 있으므로 주의 하여 주시기 바랍니다.

\* 같은 Blotting membrane에서 복수의 항원을 검출하기 위해 몇 번이고 stripping을 할 경우에는 발현량이 낮은 항원에서부터 검출하고, 또 Titer가 낮은 Antibody부터 검출하는 편이 좋은 결과를 얻습니다.

## 9. 사용방법

### Enhancer의 첨가

1. 100mL의 EzReprobe에 0.6g의 Enhancer를 첨가하여 용해합니다.

※ Enhancer 첨가후에는 냉장보관으로 2주간 안정합니다.

※ EzReprobe는 Enhancer를 첨가하지 않아도 사용가능합니다. 잘 떨어지지 않는 Antibody나 특이성이 낮은 Antibody를 사용하고 있는 경우, Enhancer를 첨가하는 것에 의해 Antibody

의 녹리효율이 상승하고, 비특이적 흡착이 경감합니다.

### **EzReprobe의 반응**

1. 검출반응후의 Blotting membrane은 Stripping을 행하기 까지 Tween 20 함유 EzWash 등의 Wash buffer속에서 냉장보관 하여 주십시오.

※Blotting membrane의 보관기간은 Blot의 상태와 항원의 안정성에 의존합니다.

2. 적절한 용기(Blotting membrane이 흐르는 방향으로 자유롭게 움직일 수 있을 정도의 사이즈)에 EzReprobe를 따릅니다.

※Mini gel size(85mm x 90mm)의 Blotting membrane 1매당 필요한 EzReprobe의 양은 30mL입니다.

3. Blotting membrane을 2의 EzReprobe에 담고 실온에서 5~15분간 shaking 합니다.

※항원량이 많을 경우, 혹은 Antibody의 Titer가 높은 경우에는 반응시간을 연장하든지 반응온도를 올리면 stripping 효율이 올라갑니다.

4. EzReprobe를 폐액하고, EzWash(Tween 20 함유) 등의 Wash buffer를 수 mL 첨가하여 용기의 내벽을 가볍게 헹굽니다.(린스 조작)

※본 제품은 산성(pH 3.0) 용액입니다. 폐액할 시에는 사용완료의 Wash buffer(EzReprobe량에 대해 약 10배량)와 혼합하여 중화시켜 주십시오.

5. 다시 한번 4의 린스 조작을 반복하여 행합니다.

6. 약 30mL의 Tween 20 함유 EzWash를 따르고 3분간 shaking 합니다.(세정 조작)

※항원량이 많을 경우, 혹은 Antibody의 Titer가 높은 경우에는 반응시간을 연장하든지 반응온도를 올리면 stripping 효율이 올라갑니다.

### **<Stripping 효과의 확인방법>**

※세정후의 Blotting membrane은 이 단계에서 발광검출시약과 반응시키는 것에 의해 표지 2차 Antibody의 잔존을 확인하는 것이 가능합니다.

※1차 Antibody가 완전히 떨어졌는지 어떤지는 세정후의 Blotting membrane을 표지 2차 Antibody와 반응시켜, 발광검출시약에 의해 1차 Antibody의 잔존을 검출하는 것으로 확인이 가능합니다.

※잔존하고 있는 Antibody를 완전히 떼어낼 경우에는 다시 한번 EzReprobe 와 반응시킵니다. 그 때, 반응시간을 연장하거나 반응온도를 올리면 Stripping 효율이 더욱 오릅니다.

7. Blotting membrane을 EzBlock BSA등의 Blocking 용액으로 Blocking 합니다.

8. 새로운 1차 Antibody, 2차 Antibody를 순차반응시킵니다.

### **10. 참고자료**

Blotting은 같은 Protocol이더라도 사소한 기술의 변동에 큰 결과 차이가 발생할 수 있습니다. 참고 사항이 필요하시면 저희 회사 042)822-1117로 문의해 주시면 감사하겠습니다.