

## 封闭缓冲液

蛋白质免疫印迹用于研究中分离和鉴定蛋白质。通过使用蛋白质印迹,研究人员能够从从细胞中提取的复杂蛋白质混合物中识别特定蛋白质。一旦通过凝胶电泳按大小分离蛋白质,它们就会被转印到膜上。转印后加入封闭缓冲液非常重要,因为它可以防止抗体非特异性地结合到膜上。

封闭缓冲液是不相关蛋白质、蛋白质混合物或其他被动吸附到膜的所有剩余结合表面的化合物的溶液。如果封闭缓冲液通过减少背景干扰和提高信噪比来提高测定的灵敏度,则它是有效的。

根据抗体-抗原反应性的特点,我们知道封闭液应封闭所有未结合的位点,不取代表面的目标蛋白,不与目标蛋白表位结合,不与抗体或检测试剂发生交叉反应。

### 通用基础缓冲液:

封闭缓冲液由含或不含去污剂的盐溶液和封闭剂组成。

### 常用封闭液:

#### 1. 牛血清白蛋白

最常用的封闭液是牛血清白蛋白 (BSA), 单一成分适用于大多数情况。BSA 的主要作用是通过堵塞膜上的剩余空间来防止非特异性结合。然而,如果所用抗体的免疫原与 BSA 结合,则可能会出现非特异性结合。由于 BSA 具有很强的免疫原性,在生产中可以产生多种针对 BSA 的抗体。如果抗体与 BSA 结合,请使用酪蛋白或脱脂奶以避免交叉反应。

#### 2. 脱脂奶粉

脱脂奶粉最大的优点是价格便宜,但由于成分比较复杂,所以适用范围较窄。磷酸化抗体可能会导致背景增加,并且不能与生物素标记的抗体系统一起使用。脱脂奶粉含有少量生物素和碱性磷酸酶残留物,当使用生物素-亲和素系统和碱性磷酸酶偶联二抗时,也可能导致高背景或背景水平升高。

#### 3. 血清

全血清含有多种蛋白质,可用作 10% 浓度的封闭剂。血清通常来自马或胎牛。血清比牛奶或 BSA 更昂贵,并且不太常用作封闭剂。全血清含有免疫球蛋白,可能与一抗或二抗发生交叉反应,导致高非特异性背景。

### 参考:

Mahmood, Tahrin, and Ping-Chang Yang. "Western blot: technique, theory, and trouble shooting." *North American journal of medical sciences* 4.9 (2012): 429.