

Towbin Buffer^{1,2} 10x, for Western Blotting

Cat. No. 42558

Produktbeschreibung:

Allgemein Elektrophoresetransferpuffer in wässriger Lösung, 10x konzentriert.
Towbin Puffer ist ein Standardpuffer für das kontinuierliche Western Blotting Verfahren. Er kann sowohl für Tank- als auch Semi-Dry-Blotting eingesetzt werden.

| Zusammen- | Komponente | Konzentration |
|------------------|--------------|---------------|
| -setzung | TRIS | 0,25 M |
| | Glycin | 1,92 M |
| | pH 8,6 ± 0,2 | |

Lagerung Die empfohlene Lagertemperatur ist +15 °C – +30 °C.

Arbeitslösung:

Für eine effiziente Bindung an die Membran wird dem Puffer meist Methanol zugesetzt. Für Nitrozellulose wird ≤20 % (w/v) und für PVDF ≤15 % verwendet. Für positiv geladene Nylonmembranen sollte der Puffer ohne Methanolzusatz eingesetzt werden. Methanol kann allerdings die Löslichkeit von Proteinen herabsetzen und ein Schrumpfen des Gels bewirken, was die Elutionsrate verringert. Abhängig von der Probe sollte dann weniger oder gar kein Methanol zugegeben werden. Für native Proteine empfiehlt es sich den Puffer ohne Methanol zu verwenden. Die Zugabe von 0,1 % SDS (w/v) kann die Elutionsrate der Proteine aus dem SDS-Gel verbessern. Allerdings hemmt SDS im Puffer die Bindung der Proteine an die Membran, weshalb auch die Zugabe von SDS für jede Probe individuell bestimmt werden muss.

Der Ansatz ist für 1 l 1x Laufpuffer beschrieben.

Zu 100 ml 10x Konzentrat werden 200 ml Methanol und 700 ml deionisiertes Wasser gegeben.

Konzentration der Komponenten in der 1x Lösung:

0,025 M TRIS
0,192 M Glycin
20 % Methanol

¹Towbin et al., (1979), PNAS USA 76, 4350 – 4354; ²Gershoni and Palade, (1982), Anal. Biochem. 131, 1 – 15