

BioEngX-Western Blot Study Club

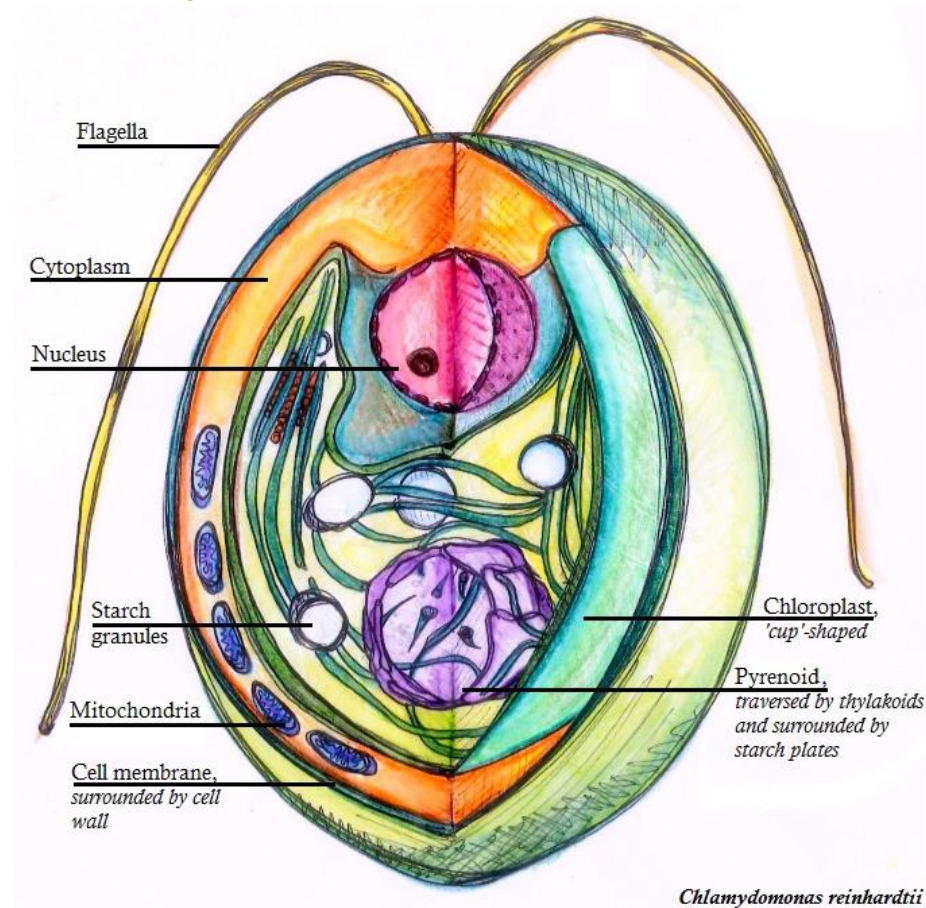


BioEngX



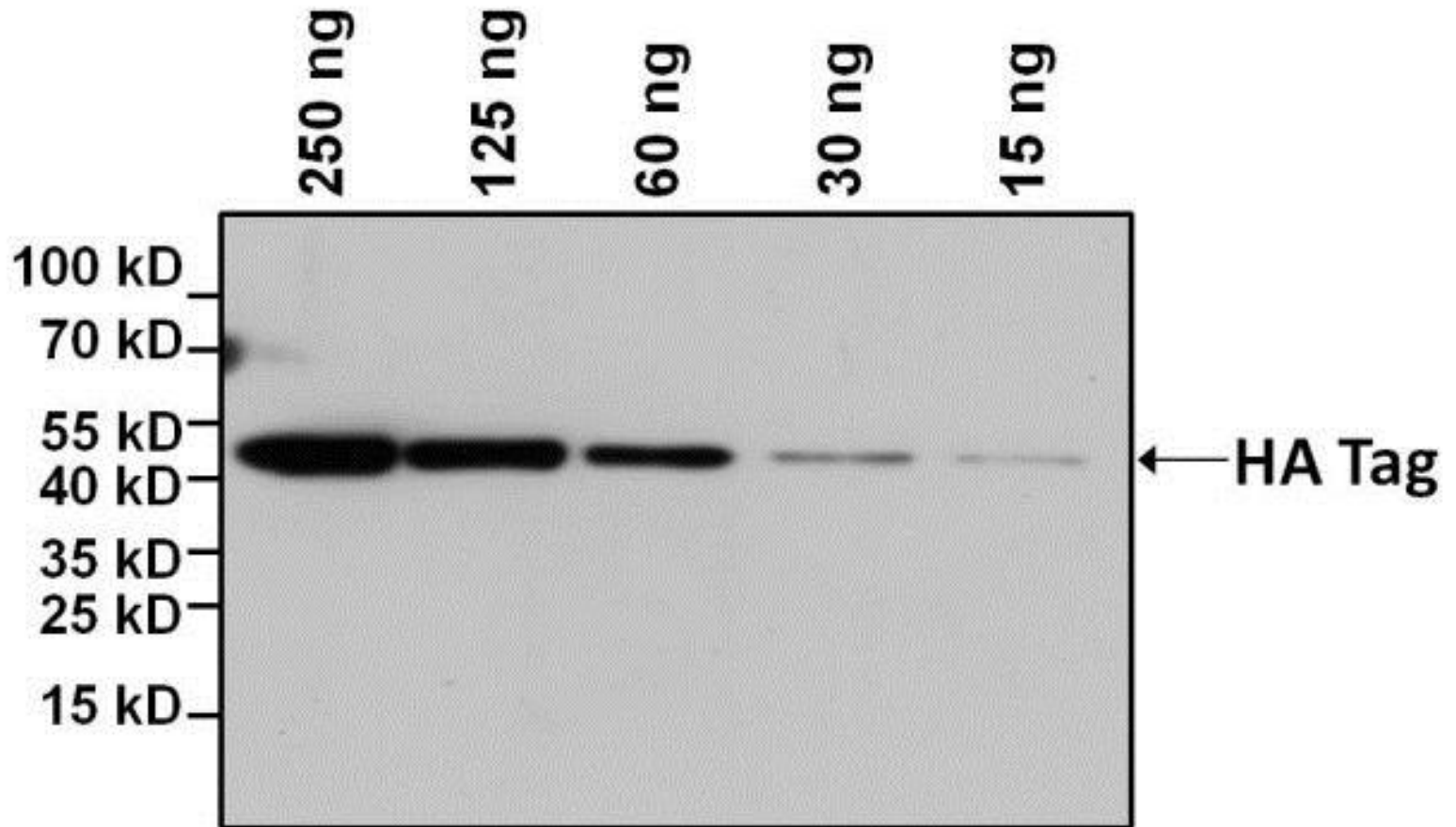
在微藻系统中克隆和表达病毒样颗粒疫苗

Cloning and Expression of Virus-Like Particle (VLP) Vaccines in Microalgal Expression Systems



Western Blot 在课题中的应用

检测带有HA标签 (influenza hemagglutinin epitope: YPYDVPDYA) 融合蛋白的表达：



Troubleshooting Tips:

封闭液的选择

脱脂奶粉 (Skimmed Milk Powder)

- 通常封闭液的浓度为 2.5-5% (w/v) ；
- 许多种蛋白质的混合物，其中含有酪蛋白 (casein) ，是一种磷蛋白 (phosphoprotein) 。

牛血清白蛋白 (Bovine Serum Albumin (BSA))

- 牛血清白蛋白是从牛血清中提纯之后的一种球蛋白；
- 通常封闭液的浓度为2-5% (w/v) ；
- 虽然BSA不是磷蛋白而且是单一蛋白，但是提纯过程中有可能含有IgG或其他血清蛋白等污染物，这些蛋白都可以和哺乳动物抗体产生交叉反应 (cross-react) ，会增加非特异性背景信号 (non-specific background noise) 。

Pierce™ Protein-Free (PBS) Blocking Buffer

Troubleshooting Tips:

Equilibration的好处

除掉电泳缓冲液中的污染盐

- 这些盐会增加转渍缓冲液的导电性，从而增加了整个转渍系统的热量产生。
- 如果你用PVDF膜的话就更需要小心了，因为它对十二烷基硫酸钠（SDS）的浓度很敏感。SDS浓度太高的话会抑制蛋白的结合能力，甚至让已经结合的蛋白脱落。

凝胶在转渍前收缩到不会变的大小

- 转渍系统中产生的热量会让凝胶膨胀扩大
- 聚丙烯酰胺凝胶（polyacrylamide gel）通常会在含有甲醇的溶液里收缩
- 提前冷藏转渍液并且把凝胶浸泡在转渍液里至少五分钟（如果目标蛋白较小，要确保平衡凝胶少于五分钟，否则分子量较小的蛋白就会从凝胶中扩散到溶液中）

Thank you!

