



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// www.real-tims.com.cn

E-mail: real-times@vip.163.com

Western 一抗二抗去除液（酸性，温和型）

货号	名称	规格
WS1090-100ml	Western 一抗二抗去除液（酸性，温和型）	100 ml
WS1090-500ml	Western 一抗二抗去除液（酸性，温和型）	500 ml

● 产品简介:

Western 一抗二抗去除液（酸性，温和型）(Western Antibody Stripping Buffer, acid, mild type) 可以高效去除印迹膜上的一抗和二抗，而吸附在膜上的抗原基本不受影响，用于 Western 中转移了蛋白膜的重复利用，可以转一次膜，做多次 Western 印迹实验，通常可以重复利用膜 5-8 次 (PVDF 膜)。使用本试剂只需大约 20-30 分钟即可实现蛋白膜的重复使用，然后可以进行 Western 的后续操作。

该产品具有以下几个优点:

1. 可用于昂贵或珍稀样本的多次杂交;
2. 有利于用不同抗体分析单次印迹上的不同蛋白，比如不同亚型的抗体;
3. 有利于对异常结果进行重新分析或确认;
4. 有利于纠正孵错的抗体;
5. 节约试剂成本，并节约时间。

● 贮存:

4℃贮存，有效期一年；常温运输。

● 用前必读:

1. 理想的抗体去除液应该是洗脱抗体的同时，不洗脱膜上结合的蛋白或者不改变抗原的结合性质，但是目前没有一种去除液可以做到只洗脱抗体，而完全不洗脱膜上结合的抗原；也没有一种去除液可以适用于所有不同亲和度的抗原抗体复合物。去除液洗脱能力太强，抗原也容易被洗脱；太弱，则抗体残留太高。因此，从免疫印迹膜上去除抗体的方案仅能用于定性用途，因为在每个抗体清除循环中，或多或少都将洗去少量膜上的蛋白。
2. PVDF 膜比硝酸纤维素膜（NC 膜）更坚韧，因此优先推荐使用 PVDF 膜用于涉及抗体剥离的实验。
3. 从 SDS-PAGE 凝胶转印完成后立即干燥 PVDF 膜或 NC 膜，可改善蛋白质与膜的结合，特别推荐用于涉及多次抗体剥离的实验。在第一轮抗体检测之前，必须使用甲醇将干燥的 PVDF 膜润湿或用 1×TBST 将干燥的 NC 膜润湿。**已经结合有抗体的膜，决不能使得膜干燥，否则抗体分子将与膜结合紧密，很难剥离。**因此，在做完一轮 ECL 发光检测实验后，需要用清除液清除掉膜上的抗体，推荐将膜浸泡于 1×TBS（非 1×TBST）中 4 度保存。
4. 检测时，优先检测低丰度抗原：先孵育条带较弱（表达较低）的蛋白，再孵育条带明显（表达较高）的蛋白，最后再孵育内参。
5. 如条件允许，下一轮的抗体杂交实验选择种属来源不同的一抗（对应不同种属的二抗），减少检测的交叉反应。

6. 该清除液适用于 ECL 发光检测的膜上抗体清除，不适合于膜上直接显色（DAB，BCIP/NBT 等），不适合荧光检测。

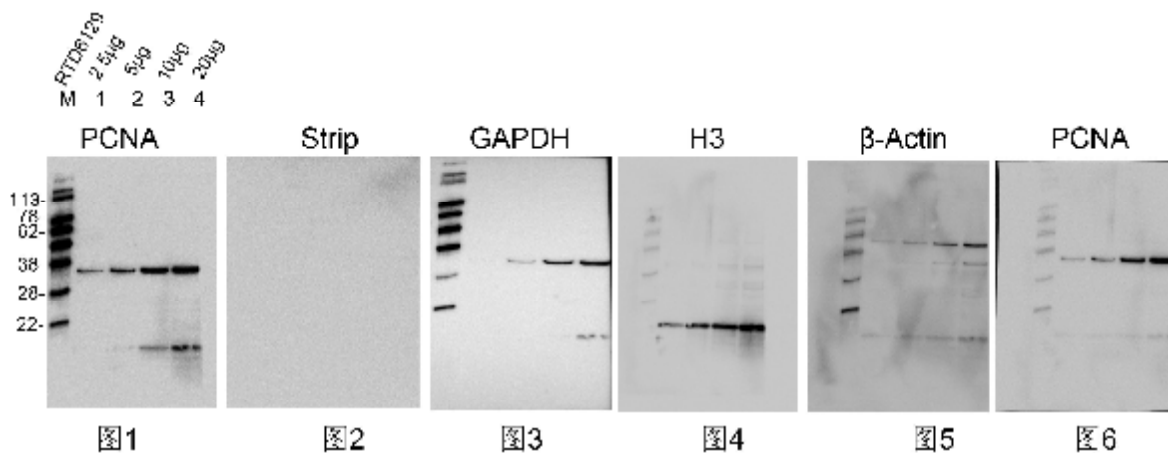
● **使用说明：**

1. 在完成 Western 化学发光检测后，NC 膜或 PVDF 膜用适量蒸馏水中震荡漂洗 5 分钟；重复漂洗 2 次。
2. 弃蒸馏水，加入适量的 Western 一抗二抗去除液，常温（25℃）在摇床上震荡漂洗 20-30 分钟（转速 70 -80 rpm）。 孵育温度和时间会明显影响抗体去除效果，参照下表调整。

操作温度	震荡清除时间	备注
18℃	30 分钟以上	冬天实验室气温低时
25℃	20-30 分钟	常规样品操作
37℃	15-20 分钟	膜上蛋白含量高的样品或清除与膜亲和力高的抗体

3. 弃去除液，加入足量蒸馏水，在摇床上漂洗 2 次，每次 5 分钟，把去除液彻底漂洗干净。
注：残余的去除液会影响后续抗原抗体的结合。
4. 可选步骤：漂洗后的转印膜孵育 ECL 发光液，检测二抗的清除效率。曝光 5 分钟，膜上看不到发光条带表明二抗清除得比较干净。如果膜上能看到条带，重复步骤 2-3。
5. 继续进行 Western 的后续操作（封闭-抗体孵育-发光检测）。
注：建议每次膜剥离后都要进行重新封闭，以降低背景。

● **实验示例：**



Western 一抗二抗去除液（酸性，温和型）检测效果图

样品：K562 细胞，SDS 裂解液（货号：RL1060）提取总蛋白

电泳条件：12% RealPAGE 预制胶（货号:RTD6117-0012） 150 V 1×TGS 80 min

转膜条件：PVDF 膜 孔径 0.45µm，1×RealBlot 快速转膜液（货号：RT5020） 恒流 350 mA 35 min

封闭：无蛋白快速封闭液（货号：PF1070） 常温 25℃ 摇床慢摇 10 min

抗体去除步骤：膜蒸馏水漂洗 3 次，加入 5 ml Western 一抗二抗去除液（酸性，温和型），常温 25℃，摇床慢摇 20 min

图 1：一抗：PCNA 鼠单抗 1:5000，常温 60 min 孵育，羊抗鼠 IgG-HRP 1:5000 RT 60min 孵育，ECL 曝光 2 秒。

图 2: 膜第 1 次清除后抗体去除效果检测: 膜水漂洗 3 次, TBST 漂洗 1 次, ECL 曝光 5 分钟, 膜上几乎无可见条带, 说明二抗去除干净。

图 3: 膜第 1 次清除后, GAPDH 检测: GAPDH 兔多抗 1:3000 RT 60 min 孵育, 羊抗兔 IgG-HRP 1:5000 RT 60min, ECL 曝光 30 秒。

图 4: 膜第 2 次清除后, H3 检测: H3 鼠单抗 1:10000 RT 60 min 孵育, 羊抗鼠 IgG-HRP 1:5000 RT 60min 孵育, ECL 曝光 3 秒。

图 5: 膜第 3 次清除后, β -Actin 检测: β -Actin 鼠单抗 1:5000 RT 60 min 孵育, 羊抗鼠 IgG-HRP 1:5000 RT 60min 孵育, ECL 曝光 29 秒。

图 6: 膜第 4 次清除后, PCNA 检测: PCNA 鼠单抗 1:5000 RT 60 min 孵育, 羊抗鼠 IgG-HRP 1:5000 RT 60min 孵育, ECL 曝光 2 秒。