



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// [www.real-tims.com.cn](http://www.real-tims.com.cn)

E-mail: [real-times@vip.163.com](mailto:real-times@vip.163.com)

## Western 一抗二抗去除液（弱碱，温和型）

货号	名称	规格
WS1200-100ml	Western 一抗二抗去除液（弱碱，温和型）	100 ml
WS1200-500ml	Western 一抗二抗去除液（弱碱，温和型）	500 ml

### ● 产品简介：

Western 一抗二抗去除液（弱碱，温和型）(Western Antibody Stripping Buffer, weak alkaline, 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 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：

常温贮存，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。

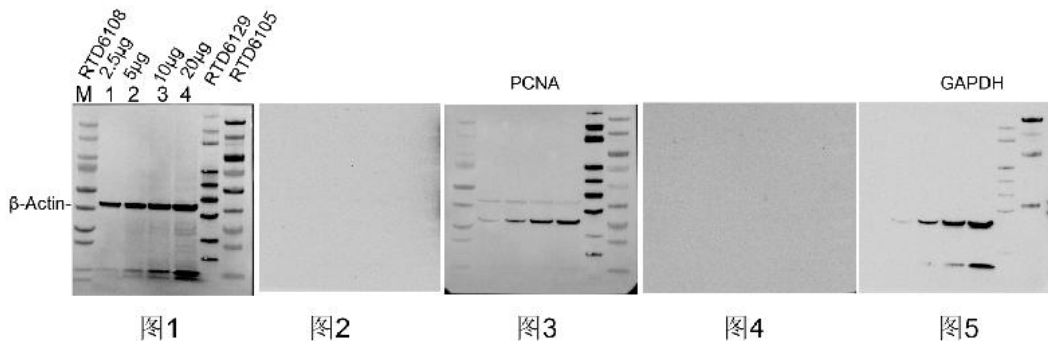
### ● 使用说明：

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，根据下表操作。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
推荐 25℃	~30 分钟	常规样品操作
37℃	~10 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 5-10 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（弱碱，温和型）（货号：WS1200）NC 膜测试

样品：K562 细胞, SDS 裂解液（货号：RL1060）提取总蛋白；

电泳：4-20% RealPAGE 预制胶（货号：RTD6117-0420）电泳

转膜：NC 膜，1×RealBlot 快速转膜液（货号：RT5020）快速湿转，恒流 400 mA 30 min

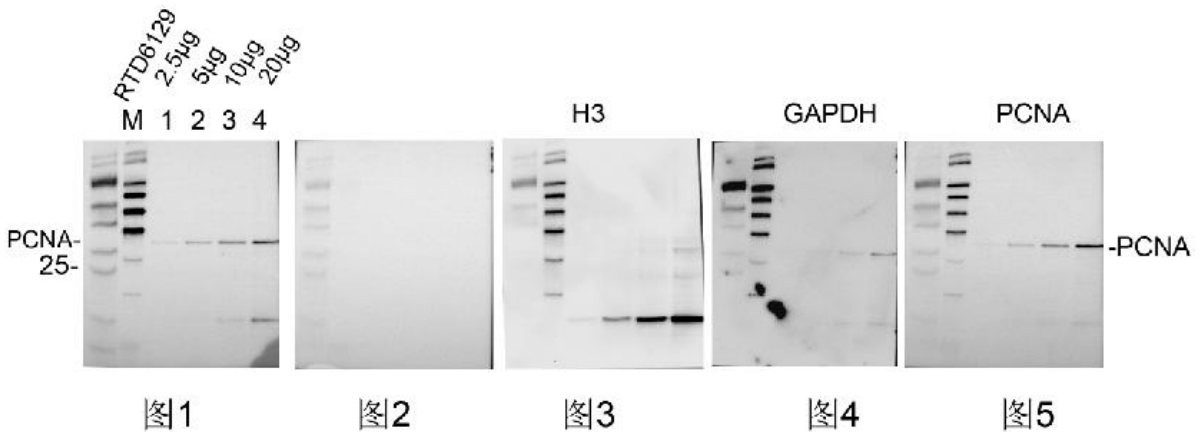
图 1：Western 快速封闭液（货号：WR5020）RT 快封 15 min；一抗：β-Actin 鼠单抗 1:10000 RT 60min；二抗：羊抗鼠 IgG-HRP 1:5000 RT 60min；ECL（货号：EC2520）曝光 1 秒。

图 2：Western 一抗二抗去除液（弱碱，温和型）RT 20 分钟剥离，ECL 曝光 11 分钟，二抗去除干净。

图 3：Western 快速封闭液（货号：WR5020）RT 快封 20 分钟；一抗：PCNA 鼠单抗 1:5000 RT 60min，二抗羊抗鼠 IgG-HRP 1:5000，ECL（货号：EC2520）曝光 1 秒。

图 4: 膜第二次剥离 RT 30 分钟, ECL 自动曝光 11min , 二抗去除干净

图 5: Western 快速封闭液(货号: WR5020)RT 快封 30min; 一抗: GAPDH 兔多抗 1:3000 60min, 二抗: 羊抗兔 IgG-HRP RT 60min, ECL 曝光 2 分 16 秒。



### Western 一抗二抗去除液 (弱碱, 温和型) PVDF 膜测试

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), 恒压 150 V 1×TGS 73 min

转膜条件: PVDF 膜 孔径 0.45µm, 1×RealBlot 快速转膜液 (货号: RT5020) 恒流 400 mA 30 min

封闭: 无蛋白快速封闭液 (货号: PF1070) 常温封闭 10 min

膜去除抗体程序: 37 度, 摇床 60rpm 10 分钟

图 1: 一抗: PCNA 鼠单抗 1:5000, RT 60min; 二抗: 羊抗鼠 IgG-HRP 1:5000 RT 60min, ECL 曝光 1 秒

图 2: 膜第 1 次清除后抗体去除效果检测: 膜水漂洗 3 次, 加入 5 ml 抗体去除液去除抗体, TBST 漂洗 3 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, 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 5 秒。

图 4: 膜第 2 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 150 秒。

图 5: 膜第 3 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 1 秒。