



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

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

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

快速抗体剥离液（免封闭）

Ver.760571-1.0

货号	名称	规格
WS1300-100ml	快速抗体剥离液（免封闭）	100 ml
WS1300-500ml	快速抗体剥离液（免封闭）	500 ml

● 产品简介：

抗体剥离液也称为抗体清除液、印迹膜再生液、抗体洗脱液、Western 一抗二抗去除液等，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，可以实现一膜多敷，即一张膜做多次 Western 印迹实验（Western Blot reprobing）。

本剥离液采用温和型配方体系，在维持较强抗体剥离能力的同时，能够降低对 NC/PVDF 膜结构及膜结合蛋白的扰动，在常温条件下孵育~20 分钟通常可以无需封闭即可完成多轮抗体剥离与再检测。本产品兼容 NC 膜与 PVDF 膜，与传统高 SDS/ β -ME 体系剥离缓冲液相比，无任何不愉快气味，对 NC 膜损伤更小，且不易导致 PVDF 膜透明化。本产品支持多轮抗体剥离与再检测，推荐常规使用 2-4 轮检测，对于信号稳定、背景较低的体系，可扩展至 5 轮以上。建议每轮剥离后通过空白 ECL 或只加二抗检测残留信号，以确认是否适合继续重新检测（reprobing）。在实验示例条件下，NC 膜经连续 7 轮剥离后仍可检测目标蛋白。

为保证剥离效率和降低背景，本产品建议一次性使用，不推荐回收后重复使用。

● 贮存、效期及运输：

4℃避光贮存；有效期 1 年；常温运输。

● 用前必读：

- 理想的抗体剥离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，但是目前没有一种剥离液可以做到只洗脱抗体，而完全不洗脱膜上结合的抗原；也没有一种剥离液可以适用于所有不同亲和度的抗原抗体复合物。剥离液洗脱能力太强，抗原容易被洗脱；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，因为在每个抗体剥离循环中，或多或少都将洗去少量膜上的蛋白。
- PVDF 膜比 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。
- 有文献指出转膜后干燥的 PVDF 膜或 NC 膜（未结合抗体），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。然而，在抗体检测之前，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，尽快用剥离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。
- 检测时，优先检测低丰度抗原，即先孵育条带较弱（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. 该剥离液仅适用于 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）后抗体的清除，也不适合荧光检测后抗体的清除。

● 使用说明：

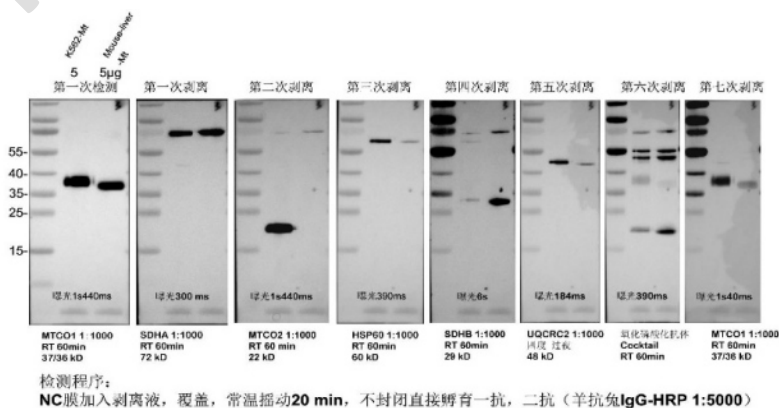
1. 在完成 ECL 化学发光检测后，印迹膜在 $1\times$ TBST 中震荡漂洗 5 分钟，重复漂洗 3 次，以去除化学发光底物。
2. 弃溶液，加入适量的抗体剥离液，根据下表操作。

操作温度	震荡清除时间	备注
25°C 摇床慢摇	~20 分钟	常规样品操作
注：膜上蛋白含量高的样品或清除与膜亲和力高的抗体，可以 37°C 摇床慢摇~20 分钟。		

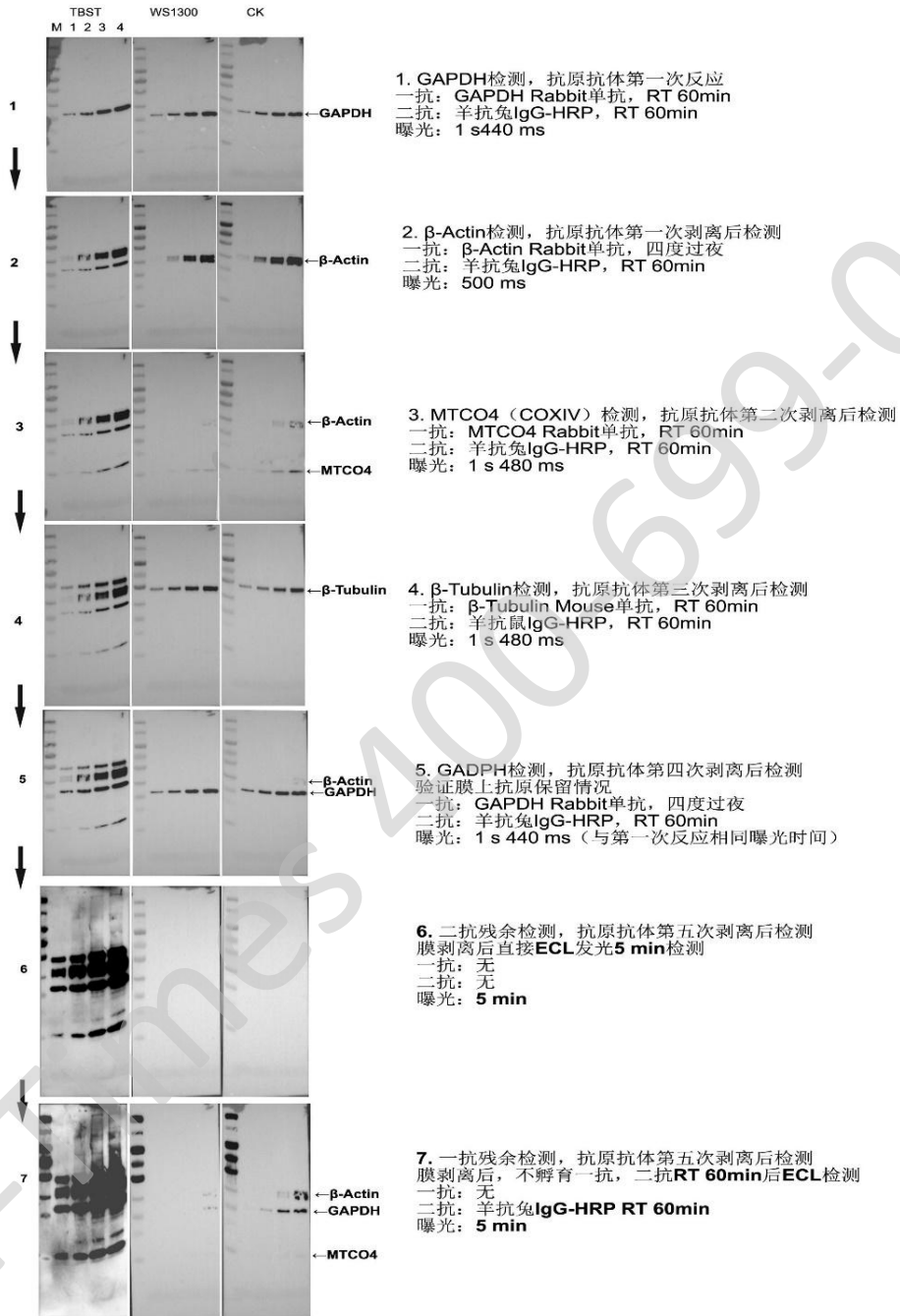
3. 弃剥离液，加入足量 $1\times$ TBST，在摇床上漂洗 3 次，每次 5 分钟，把剥离液彻底漂洗干净。
注：残余的剥离液会影响印迹膜后续抗原抗体的结合，确保要漂洗干净；**由于剥离液中含有剥离下来的抗体，不建议重复使用剥离液。**
4. 剥离效果验证（可选）：
 - 4.1 直接显影法（空白显影法）-检测 HRP 残余：漂洗后的已剥离转印膜先不要孵育新的一抗，直接孵育 ECL 发光液，曝光 5-10 分钟，膜上看不到发光条带表明二抗清除得比较干净。如果膜上能看到条带，重复步骤 2-3。此方法的局限性是只能验证二抗的剥离效果，不能检测一抗的剥离效果。
 - 4.2 功能验证法（只加二抗法）-检测一抗残余：漂洗后的已剥离转印膜，常温孵育二抗一小时， $1\times$ TBST 漂洗三次，ECL 发光检测，无原目的蛋白的特异性条带，表明抗体剥离比较干净；如果原目的条带位置有清晰的信号残余，说明膜上有残余的一抗，重复步骤 2-3。
 - 4.3 回检法-检测剥离对抗原影响：建议在多轮剥离与再检测后，重新检测首轮靶标，以评估膜上抗原保留情况。该步骤可作为剥离液温和性与多轮重复检测兼容性的补充验证。
5. **处理完后的印迹膜可以无需封闭，可直接进行下一次 Western Blot 实验。**
注 1:在多数 Western Blot reprobing 条件下,本产品剥离后无需重复封闭即可进行后续抗体孵育。但对于部分高背景抗体或高灵敏化学发光检测体系，重新封闭有助于降低非特异信号。
注 2: 剥离后的印迹膜可以置于 $1\times$ TBS 缓冲液（非 $1\times$ TBST）中，4°C 保存。

● 实验示例：

1. NC 膜：



2. PVDF 膜:



PVDF 膜用 1×TBST 作为阴性对照或剥离液常温 25 度剥离 20 min; 不封闭; 继续孵育后续一抗; lane1, 2, 3, 4 分别为 K562 RIPA 提取总蛋白, 含量为 0.625, 1.25, 2.5, 5 μ g; M 为 Marker RTD6105; 转膜后平行样品分为三份: 阴性对照-1×TBST; WS1300-用快速抗体剥离液 (免封闭); CK-友商 Fast Western Blot Antibody Stripping Buffer