

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

10×RealBlot 快速湿转转膜液 10×RealBlot Rapid Tank Transfer buffer

.. -....

● 产品组成:

货号	名称	规格
RT5020	10×RealBlo 快速湿转转膜液	500 ml
	说明书	一份

● 产品简介:

10×RealBlo 快速湿转转膜液使用独特配方,能高效快速地将蛋白转移到印迹膜(PVDF 或硝纤膜)上。使用湿转法(Tank blot)能在 15-40 分钟内完成转膜过程。产品特点:

快速和环保:快速转膜液不使用甲醇,减轻了对实验者和环境的伤害。

兼容性好:快速转膜液能兼容 Laemmli 胶(Tris-甘氨酸胶), Bis-Tris 胶等多种凝胶。

转移效率高:快速转膜液对分子量跨度较大的蛋白也有很好的转移效率,有效解决了大小蛋白不能在同一张膜上同时转移的问题。

● 贮存、效期及运输:

4-8℃贮存;有效期一年:常温运输。

● 使用说明:

转膜前的准备:

裁好的普通滤纸或 Whatman 3MM 滤纸;裁好的转印膜;足够的 1×快速转膜液;无水甲醇(处理 PVDF 膜用)

一 湿转法 (Tank blot):

1 按照下表配制 1×快速转膜液

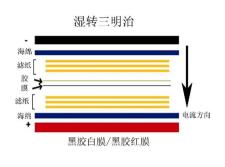
加入顺序	原料	1×快速转膜液配制量 1000 ml
1	10×快速转膜液	100 ml
2	超纯水	700 ml
3	无水乙醇	200 ml

- 2 将滤纸和海绵浸泡在 1×快速转膜液中, 完全浸湿, 平衡 5 分钟。
- 3 <u>PVDF 膜使用前要用无水甲醇润湿 30 秒</u>,随后浸泡在 1×快速转膜液中,完全浸湿,平衡 5 分钟; NC 膜无需处理,直接浸泡在转膜缓冲液中。
- 4 将凝胶在超纯水中浸泡漂洗 2 分钟,去除胶表面的 SDS;随后将凝胶浸泡在 1×快速转膜液中。 注意:水中漂洗时间不能超过 2 分钟,否则可能会影响大分子量蛋白的转移。
- 5 按照以下顺序做好转印三明治结构:
 - 1 负极 (阴极)
 - 2 一块海绵
 - 3 滤纸 (3 张, 每张厚度 0.8mm)
 - 4 凝胶
 - 5 转印膜
 - 6 滤纸 (3 张, 每张厚度 0.8mm)

- 7 一块海绵(根据三明治的厚度选择是否使用)
- 8 正极 (阳极)

注意:① 要彻底清除三明治结构中的气泡,适当补加 1×快速转膜液保持三明治结构湿润。

- ② 三明治结构的制作不能太紧,也不能太松。太紧和 太松都会影响转印效果。如果太紧的话,可以去除 阳极一侧的海绵。
- 6. 三明治结构放于转移槽中,转印槽中灌满 1×快速转膜液。
- 7 湿转推荐使用恒流转移:



凝胶厚度	恒流	分子量大小	转膜时间	电压变化
1.0 mm -	300 mA	20 kD 以下	20 min	50-65 V
		20- 150 kD	40 min	
		150 kD 以上	60 min 以上	
	400 mA	20 kD 以下	15 min	30-65 V
		20- 150 kD	30 min	
		150 kD 以上	40 min 以上	
			注:如果凝胶厚度 1.5 mm,延长转膜时间 15 min	

8 配好的 1×快速转膜液不建议重复使用,以免影响转膜效果。

二 问题解决:

问题	可能原因	解决方法
转膜不充分	湿转转移槽铂金丝有盐沉积	彻底用超纯水清洗转移槽
	转移膜,滤纸,凝胶没有在 1×转移	转移膜,滤纸,凝胶要在1×快速转膜液
	缓冲液中彻底平衡	中平衡 5 分钟,震荡平衡更好
	PVDF 膜没有用甲醇预处理	PVDF 膜要用甲醇彻底润湿,然后在 1×
		快速转膜缓冲液中平衡 5 分钟
	转膜时间不充分	适当延长转膜时间
不连续的转膜	凝胶和膜之间有气泡	转膜三明治做好后,用滚轴把凝胶和膜之间的气泡赶走
	PVDF 膜没有用甲醇预处理	PVDF 膜要用甲醇润湿,然后在 1×快速
		转膜缓冲液中平衡 5 分钟
转膜设备不工作	电泳电源不配套	电泳电源要符合以下参数: 300W,
		5-300V, 0.01-3A