



版本: 2020/01/25

20×Western超快转膜缓冲液

20×Western Rapid Transfer buffer

产品组成:

货号	名称	规格	保存条件
ZS401B	20×Western超快转膜缓冲液	500 mL	RT
	说明书	一份	

产品简介:

我公司研发的超快转膜液使用独特配方, 能高效超快地将蛋白转移到印迹膜 (PVDF或硝纤膜) 上。湿转法 (Tank blot) 或半干转法 (Semi-dry blot) 都可以使用。

快速高效: 分子量100kD以下蛋白只需转膜30-40分钟。

发热量低: 与传统转膜液相比, 发热量更低, 可以无需冰浴操作。

兼容性好: 超快转膜液能兼容Laemmli胶, 预制胶, Bis-Tris胶等多种凝胶。

转移效率高: 超快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: 18-26℃常温贮存, 有效期两年。

使用说明:

转膜前的准备: 5-6张裁好的滤纸; 裁好的转印膜; 足够的1×超快转移buffer

一、湿转法 (Tank blot)

1、配制1×超快转膜液。

1升1×Western超快转膜液: 取50mL 20×超快转膜液, 加入750mL双蒸水, 混匀之后加入200mL甲醇, 混匀即可。现配现用, 配好后置于冰上存放。

2、将滤纸和海绵浸泡在1×超快转膜液中, 完全浸湿。

3、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×超快转膜液中。

注意: 在使用6%或8%分离胶转移大分子蛋白时, 应该降低甲醇含量至10%, 以获得更好转移效果。对于200kd以下的蛋白转印, 可以使用乙醇代替甲醇。

正极 (阳极)	选择是否使用 (根据三明治的厚度)	一块海绵	1mm滤纸	转印膜	凝胶	2mm滤纸	一块海绵	负极 (阴极)
---------	-------------------	------	-------	-----	----	-------	------	---------

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

② PVDF膜使用前要用无水甲醇润湿30秒。

③ 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或滤纸。

5、将三明治结构放于转移槽中。

二、半干转 (Semi-dry blot)

1、按照下表配制1×超快转膜液。

	1×超快转膜液配制量		
	100 mL	500 mL	1000 mL
20×超快转膜液	5 mL	25 mL	50 mL
甲醇	20 mL	100 mL	200 mL
超纯水	75 mL	375 mL	750 mL

2、将滤纸浸泡在1×超快转膜液中, 完全浸湿。

3、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×超快转膜液中。

注意: 水中漂洗时间一定不能超过2分钟, 否则分子量较大的蛋白不能完全转移。

4、按照以下顺序做好转印三明治结构。

正极 (阳极)	上层 滤纸	转印 膜	凝 胶	下层 滤纸	负极 (阴极)
------------	----------	---------	--------	----------	------------

半干转时, 滤纸、胶、膜之间的大小, 一般是下层滤纸>=膜>=胶>=上层滤纸。上下两层的滤纸一定不能接触; 滤纸、胶、膜之间千万不能有气泡。接触的滤纸和气泡会造成短路。

注意: PVDF膜使用前要用无水甲醇润湿30秒。

三、转移条件

1、湿转

推荐使用恒流转移, 电流可设置350-400mA, 转膜液中离子成分较多, 可以承受大电流, 并且发热量较低。

分离胶浓度	建议转膜时间	推荐蛋白转移范围
6%	100-120min	100-300kD
8%	90-100min	40-300kD
10%	30-40min	25-90kD
12%	30-40min	10-60kD
15%	30-40min	10-40kD

注: 不推荐使用恒压转移, 因转膜液中离子成分较多, 当电压在100v左右时, 电流会达到400mA, 此时已达到普通电泳仪器最大电流, 随着时间延长, 可能无法达到稳定的100v电压。

2、半干转

电流	转膜时间
300mA	30 to 35 min
330mA	25 to 30 min
350mA	25 to 30 min
375mA	20 to 25 min
400mA	15 to 20 min