



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。与传统转膜液相比, 发热量更低。

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一张膜上同时转移的问题。

贮存: 18-26°C常温贮存, 有效期一年。

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。

4、按照以下顺序做好转印三明治结构。

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。

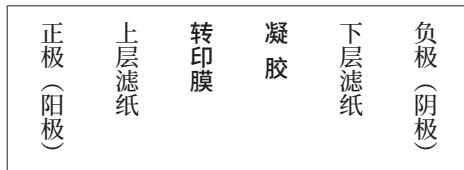
	1×超快转膜液配制量		
	100 ml	500 ml	1000 ml
20×超快转膜液	5 ml	25 ml	50 ml
甲醇	20 ml	100 ml	200 ml
超纯水	75 ml	375 ml	750 ml

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。



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