



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 快速转膜液 10×RealBlot Rapid Transfer buffer

Ver720465

● 产品组成:

货号	名称	规格	保存条件
RT5020	10×RealBlo 快速转膜液	500 ml	4℃
	说明书	一份	

● 产品简介:

快速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）或半干转法（Semi-dry blot）方法，能在 10-40 分钟内完成转膜过程。

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，预制胶，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:

6-10 张裁好的普通滤纸或 Whatman 3MM 滤纸；裁好的转印膜；足够的 1×快速转移 buffer；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

	1×快速转膜液配制量 1000ml
10×快速转膜液	100 ml
无水乙醇	200 ml
超纯水	700 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 **PVDF 膜使用前要用无水甲醇润湿 30 秒**，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。

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）
- 4 凝胶
- 5 转印膜
- 6 滤纸（3 张）
- 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 将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：

电流	转移时间	电压变化
300 mA	30 to 35 min	50-55 V
350 mA	25 to 30 min	55-58 V
375 mA	20 to 25 min	58-62 V
400 mA	15 to 20 min	58-65 V

二 半干转 (Semi-dry blot) :

1 按照下表配制 1×快速转膜液：

1×快速转膜液配制量 500ml	
10×快速转膜液	50 ml
无水乙醇	100 ml
超纯水	350 ml

2 将滤纸浸泡在 1×快速转膜液中，完全浸湿。

3 **PVDF 膜使用前要用无水甲醇润湿 30 秒**，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，否则分子量较大的蛋白可能不能完全转移。

5 按照以下顺序做好转印三明治结构：

- 1 负极（阴极）
- 2 下层滤纸（5 张）
- 3 凝胶
- 4 转印膜
- 5 上层滤纸（5 张）
- 6 正极（阳极）

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。

6 半干转推荐使用恒流转移：

恒电流	转移时间	电压变化
400 mA	25-30min	9-13 V

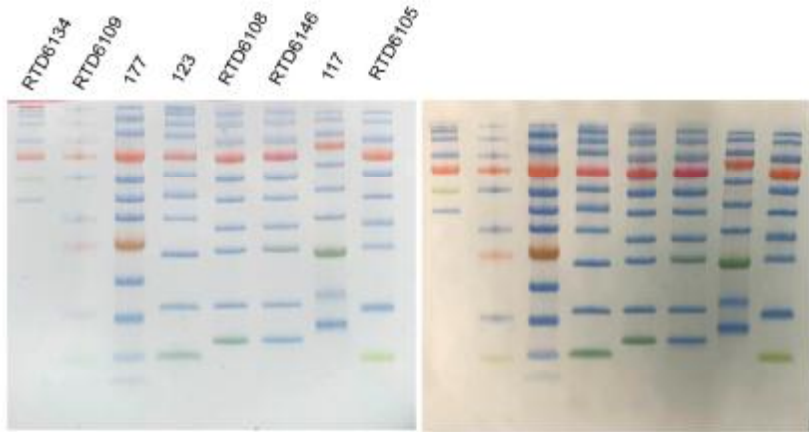
注：不同厂家半干转仪器设置可能有所不同，请根据厂家说明书适当调整。

三 问题解决：

问题	可能原因	解决方法
转膜不充分	湿转转槽铂金丝有盐沉积	彻底用超纯水清洗转移槽
	转移膜，滤纸，凝胶没有在 1×转移缓冲液中彻底平衡	转移膜，滤纸，凝胶要在 1×快速转膜液中平衡 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

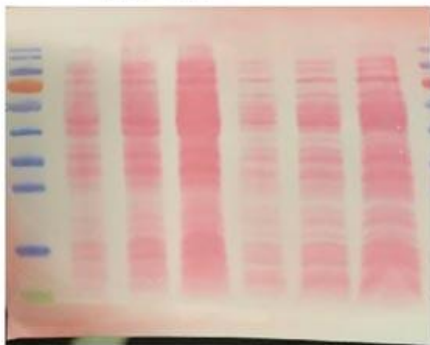
		间的气泡赶走
	PVDF 膜没有用甲醇预处理	PVDF 膜要用甲醇润湿，然后在 1×快速转膜缓冲液中平衡 5 分钟
转膜设备不工作	电泳电源不配套	电泳电源要符合以下参数：300W，5-300V，0.01-3A

四 实验示例：



电泳条件：RTD6148；10% gel；1×TGS 200 V 33-16 mA
 转膜条件：1×RealBlot快速转膜液；恒流350 mA 55-51 V 30 min；NC膜湿转；1mm滤纸，一边一张

丽春红染色



转膜后胶考染



RealBlot快速转膜液 半干转测试 15-99 2019-6-29
 仪器：Real-Times半干转仪（货号RT-GZY01）
 膜：NC膜 0.45μm
 转膜缓冲液：1×RealBlot快速转膜液（含乙醇）
转膜条件：稳流400 mA 电压变化 10-11 V，25 min
 转膜滤纸：1 mm厚度滤纸（货号TP1010），每边2张