



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

5×RealBlot 快速半干转转膜缓冲液 5×RealBlot Fast Semi-Dry Transfer buffer

Ver740969

● 产品组成:

货号	名称	规格
RT5030	5×RealBlot 快速半干转转膜缓冲液	500 ml
	说明书	一份

● 产品简介:

5×RealBlot 快速半干转转膜缓冲液使用独特配方,使用半干转法(Semi-dry blot)方法,能在 10-20 分钟内高效快速地将蛋白转移到印迹膜(PVDF 膜或 NC 膜)上。

特点:

环境友好:快速转膜液可以不使用甲醇,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 Tris-甘氨酸胶, Bis-Tris 胶等多种凝胶。

节省时间:快速转膜液能在 10-20 分钟内完成蛋白的转印。

以每次转印使用 100 ml 1×RealBlot 快速半干转转膜缓冲液计算,该产品可以使用 25 次。

● 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:

半干转转印滤布(货号:SP1010)或 2 张半干转专用超厚滤纸(厚度 2.4 mm);裁好的转印膜;足够的 1×RealBlot 快速半干转转膜缓冲液;无水甲醇;无水乙醇。

1. 按照下表配制 1×RealBlot 快速半干转转膜缓冲液:

加入顺序	组份	1×快速转膜液配制量 500 ml	备注
1	5×快速转膜液	100 ml	
2	超纯水	约 300 ml	
3	无水乙醇或者无水甲醇	100 ml	两者选择其一。用乙醇更环保,用甲醇转膜效果更好。
4	超纯水	定容至 500 ml	

注: 1.1 按照顺序加入各种溶液。如果加入转膜液后不加水而是加入醇将会产生沉淀。

1.2 配好的转膜缓冲液 4 度预冷 30-60 分钟再使用,将会大大降低转膜时的发热量。

2. 将滤布或滤纸浸泡在 1×快速转膜液中,完全浸湿 3-5 分钟。

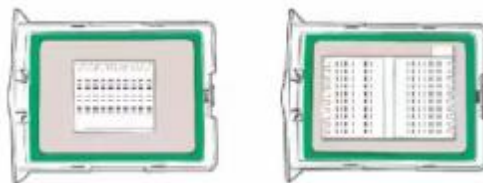
3. **PVDF 膜使用前要用无水甲醇润湿 30 秒**,浸泡在 1×快速转膜液中,平衡 5 分钟。NC 膜无需处理,直接浸泡在转膜缓冲液中。

4. 将凝胶在超纯水中浸泡漂洗 2 分钟,去除胶表面的 SDS。

5. 按照顺序做好转印三明治结构：



图一



图二

5.1 排列顺序（图一）：1 负极（阴极）-2 一张超厚滤纸或四层滤布-3 凝胶-4 转印膜-5 一张超厚滤纸或四层滤布-6 正极（阳极）

5.2 凝胶在转印槽中的排列（图二）：

一块胶尽量排布在转印槽中间位置；两板胶把小片段靠近（foot-to-foot）排布在转印槽中间位置。

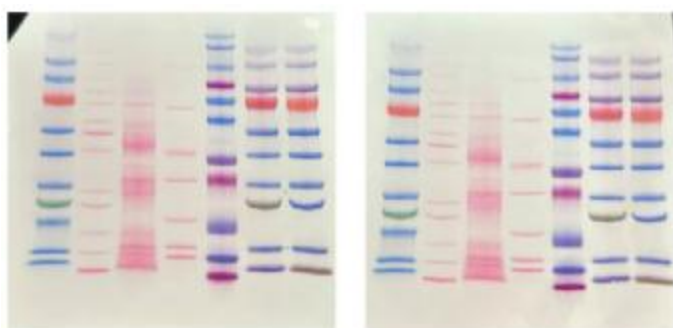
6. 用滚轮赶出气泡。

7. 半干转推荐使用恒流转移：

分子量范围和凝胶厚度		一块小型胶 (7.3×8.5 cm)	两块小型胶 (7.3×8.5 cm) 或一块中型胶 (8.5×13.5 cm)
1.5 mm 凝胶		下列条件基础上增加 5-10 分钟	下列条件基础上增加 5-10 分钟
1 mm 凝胶	高分子量	大于 130 kD	恒流 1.3 A, 20 分钟
	混合分子量	5-130 kD	恒流 1.3 A, 15 分钟
	低分子量	小于 30 kD	恒流 1.3 A, 10 分钟
			恒流 2.5 A, 20 分钟
			恒流 2.5 A, 15 分钟
			恒流 2.5 A, 10 分钟

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。

● 实验示例：



Real-Times RT5030

Bio-Rad 10026938

凝胶：4-18% Tris-甘氨酸预制胶

电泳：1×TGS 200V 57-23 mA 50 min

滤纸：2.4mm 厚滤纸（Bio-Rad 1703965）

转印膜：0.22 NC 膜(Cat:ML-NC-152022-5)

仪器：伯乐 Turbo 半干转机器

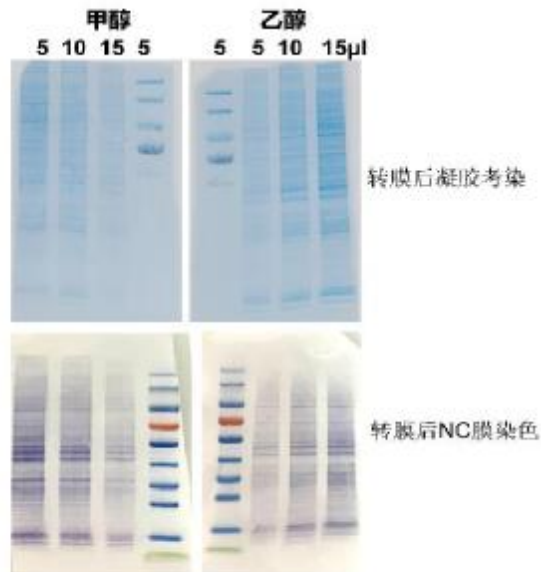
转膜条件：恒流 1.3A 10 min

染色：膜丽春红染色

● 常见问题：

Q1.为什么转膜后胶上还是有可见的预染 Marker 或考马斯亮蓝染色后胶上有比较多的残余蛋白？

A1: 目前没有任何一种转膜方法可以做到 100%完全把蛋白从凝胶转移到膜上，转移结束后凝胶上总是或多或少地残留着蛋白。一般说来，快速半干转可以比较完全地把预染 Marker 转移到膜上，然而对目的蛋白转移来说，或多或少在胶上会有残余。相对于低分子量蛋白来说，高分子量蛋白在胶上的残余会更加明显。如果半干转转膜后发现预染 Marker 在胶上都明显可见，说明您需要优化转膜条件。可以延长转膜时间或/和使用甲醇配制转膜缓冲液。我们的实验结果发现，使用甲醇配制转膜缓冲液至少可以提高 20%的转膜效率（图三）。



凝胶：4-20% Tris-Glycine预制胶
 样品：K562-RIPA-TP 上样5,10,15 µl; Marker RTD6105
 转膜：Bio-Rad Turbo System; 滤布：NC膜 0.22µm;
 1×RealBlot转膜缓冲液+20%甲醇（左）或乙醇（右）
 转膜条件：恒流1.3A 10min

图三

Q2. 配制 1×转膜缓冲液时，可以使用甲醇代替乙醇吗？

A2: 可以使用甲醇代替乙醇，并且使用甲醇配制的转膜缓冲液转膜效率要高于乙醇（图三）。然而，考虑到甲醇的毒性和环境的不友好，请谨慎选择是否使用。

Q3. 转膜缓冲液含有 SDS 吗？

A3: 转膜缓冲液中含有 SDS，SDS 带负电荷，可以有效提高转移效率。

Q4. 转膜结束后发现三明治温度很高，有烧胶变黄的现象，应当如何避免？

A4: 使用推荐的转膜条件，基本可以避免烧胶现象。如果出现了烧胶现象，可以采用以下方案优化。第一 提前将浸泡有厚滤纸（厚 2.4 mm）或滤布的转膜缓冲液 4 度预冷 30-60 分钟。第二 尽量不要使用多层叠加放置的薄滤纸（一般湿转用的滤纸厚度会低于 1 mm），它们吸水和保水能力较弱，在高电流的转膜条件下缓冲液很容易挥发殆尽，导致烧胶现象。第三 如果无奈使用多层薄滤纸进行半干转实验，建议缩短转膜时间，然而会导致转膜效率降低，胶上残余较多。

Q5. 5×RealBlot 快速半干转转膜缓冲液能用于伯乐 Trans-Blot SD Semi-Dry Electrophoretic Transfer Cell 吗？

A5: 伯乐的 SD 系统是老式半干转系统，5×RealBlot 快速半干转转膜缓冲液与其不兼容，不建议使用。

Q6. 5×RealBlot 快速半干转转膜缓冲液适用于哪些半干转机器？

A6. 目前已经测试的机器列表如下：

公司	仪器名称	备注
伯乐 Bio-Rad	Trans-Blot Turbo Transfer System	可以平替伯乐配套缓冲液 Trans-Blot Turbo 5× Transfer Buffer(货号 10026938)
赛默飞 Thermo	Pierce G2 Fast Blotter	可以平替 Pierce 1-Step Transfer Buffer 1 ×(货号 84731)

赛默飞 Thermo	Power Blotter Systm	可以平替 Power Blotter 1-Step Transfer Buffer, 5× concentrate(货号 PB7300)
	Power Blotter XL Systm	
北京鸿涛基业	HT-1000TBT 全能型半干转印系统	可以配套
广州道一	FTB95 蓝箭快转仪	可以平替厂家配套的快速半干转缓冲液
常州 ACE	S-TRANS 快速多通道半干转印仪	可以平替; 厂家采用阴阳极转膜缓冲液
北京韦克斯	WIX-fastBLOT 快速转印系统	可以配套
北京龙方	LF-GZY02 型半干转印电泳槽	可以配套