



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// www.real-times.com.cn

E-mail: real-times@vip.163.com

10×湿转转膜缓冲液（适用于 Tris 醋酸胶高分子量蛋白） 10×Tank Transfer Buffer（for Tris-HAc High MW Protein）

Ver.760673-1.0

货号	名称	规格
RT5050	10×快速湿转转膜缓冲液（适用于 Tris 醋酸高分子量蛋白）	500 ml

● 产品简介：

10×快速湿转转膜缓冲液使用独特配方，能 40 分钟内高效快速地将大分子量蛋白转移到印迹膜（PVDF 或硝纤膜）上。产品特点：绿色环保：快速转膜液不使用甲醇，减轻了对实验者和环境的伤害。

该缓冲液经过特别优化，特别适合于 Tris-醋酸胶分离大分子蛋白后的转膜。

● 贮存、效期及运输：

4-8℃贮存；有效期一年；常温运输。

● 使用说明：

1. 按照下表配制 1×快速转膜液

加入顺序	组份	1×快速转膜液配制量 1000 ml
1	10×快速转膜液	100 ml
2	超纯水	800 ml
3	无水乙醇	100 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。

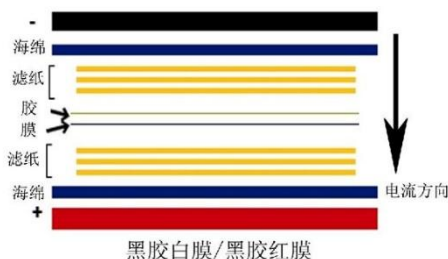
4. 将凝胶浸泡在 1×快速转膜液中。

5. 做好转印所需的三明治结构，从负极（黑色面）到正极（红色面或白色面）顺序为海绵、滤纸、凝胶、印迹膜、滤纸、海绵，然后转移至转印槽中，加入快速转膜缓冲液。

注 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。

注 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。

湿转三明治



6.推荐使用恒流转移:

凝胶厚度	恒流	凝胶浓度	推荐转膜时间
1.0 mm	400 mA	3-8%Tris 醋酸胶	~40 min

● 实验示例:

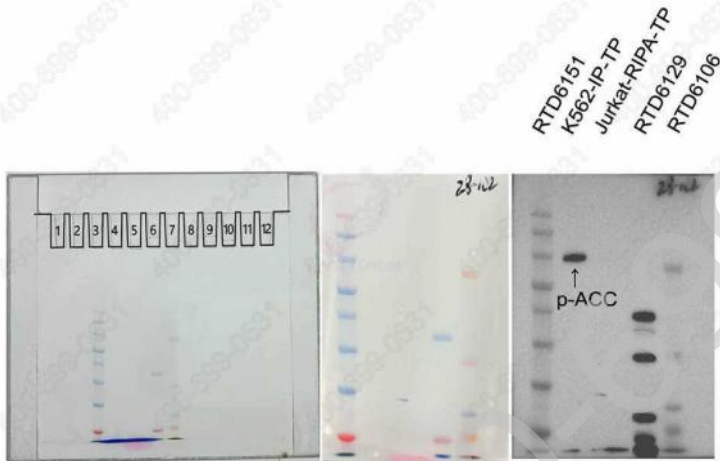


图 1

图 2

图 3

样品 1: K562-IP-TP 提取样品: K562 细胞用 Western 及 IP 细胞裂解液 (WL1020) 提取总蛋白;
样品 2: Jurkat-RIPA-TP 提取样品: Jurkat 细胞用 RIPA 裂解液 (强) (RL1020) 提取总蛋白;
样品处理: 5×双色蛋白上样缓冲液 (变性, 还原) (PL090), 95 度 5 min, 样品 1 和 2 上样 20 µg;
Marker: 三色预染高分子量蛋白 Marker III(25-400 kD) (RTD6151), ECL 发光 Marker II (22-154 kD) (RTD6129), 彩虹预染宽分子量蛋白 Marker (10-260 kD) (RTD6106), 上样各 5 µl;
电泳: 3-8% RealPAGE Tris-醋酸预制胶(RTD6154), 1×Tris-醋酸-SDS 电泳缓冲液 (加抗氧化剂) (TA050), 恒压 150 V 51-44 mA 70 min(图 1);
转膜: 1×快速湿转膜缓冲液 (RT5050) 加 10%乙醇; 0.45 µm PVDF 膜; 恒流 400 mA 40 min 84-88 V, 全程冰浴搅拌转膜 (图 2);
封闭: Western 封闭液 I (BSA) (WB1070) RT 60 min;
抗体: p-ACC 兔单抗 CST#3661S 1: 1000 4℃过夜孵育; 二抗-Jackson 羊抗兔 IgG-HRP 1:5000 RT 60 min;
ECL 发光检测 (图 3): K562 p-ACC 检测分子量~250 kD, Jurkat 未检测到。