

10× 电泳转膜液

Western Transfer Buffer(10×)

使用说明书

版本号: 251010

货号及规格:

目录编号	包装规格
------	------

P461-01	500mL
---------	-------

储存条件: 室温运输和保存, 保质期 2 年。

产品简介: 10× Western 转膜液, 可以用于 Western 时湿法电转膜, 使用前需配制成 1× Western 转膜液。本转膜液不含甲醇和 SDS, 无需调节 pH 值。

使用方法(仅供参考):

一、1×Western 转膜液配制方法(以 100mL 10×转膜液配制 1×转膜液举例):

目的蛋白		10×转膜液	添加量(定容后体积计算)	
			无水甲醇	SDS
变性蛋白	<20kD 蛋白	100mL	20%	0.01%
	20-80kD 蛋白		10%	0.05%
	>80kD 蛋白		10%(NC 膜)	0.01%
0-5%(PVDF 膜)				
非变性蛋白	<20kD 蛋白		5-10%	0.01%
	20-80kD 蛋白		0-5%	0.05%
	>80kD 蛋白	0%	0.10%	
加入超纯水, 定容至 1000mL, 无需调节 pH(pH~8.3)				

注: 甲醇和 SDS 在转膜中有拮抗作用。甲醇使蛋白更加结合在膜上, 而 SDS 让蛋白更加离开膜。因此对大蛋白转膜来说, 多加 SDS, 少加甲醇; 而对小蛋白转膜, 多加甲醇, 少加 SDS。

二、转膜:

1. 膜的选择: 转膜可以选择 PVDF 膜或 NC 膜。根据蛋白大小选择膜的孔径。一般说来, 大于 20kD 蛋白选择 0.45 μm 孔径, 低于 20kD 选择 0.22 μm 孔径。

PVDF 膜使用前需用无水甲醇润湿活化处理。

2. 三明治结构: 制作三明治时, 将膜置于转膜夹芯正极一侧, 凝胶置于转膜夹芯负极一侧, 这样凝胶上带负电荷的蛋白才能转移到膜上。蛋白转膜三明治结构为: 负极(电转夹黑色面)-海绵垫-滤纸-凝胶-膜-滤纸-海绵垫-正极(电转夹白色面)。
3. 转膜条件: 以下转膜条件仅供参考, 请根据目的蛋白确定最佳的转膜条件。

膜孔径	蛋白大小	稳流	建议时间	降温措施
0.22 μm	<20 kD	200 mA	~30 分钟	不需要
0.45 μm	20-50 kD	300 mA	~45 分钟	需要
0.45 μm	50-200 kD	350 mA	~50 分钟	需要
0.45 μm	>200 kD	350 mA	~2.5-4.5 小时	需要

注意事项:

1. 转膜液如果颜色变成浅棕色或黄褐色, 应弃用。
2. 1×Western 转膜液建议现用现配, 不建议保存。
3. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
4. 本制品仅供科研使用, 严禁用于临床诊断和药物等用途。

=====

