



## 10×Fast Transfer Buffer for Western Blot

### 10×Western Blot快速转膜缓冲液

版本号: V240501

货号: E174

保存: 常温

运输: 常温

| 货号      | 规格     |
|---------|--------|
| E174-01 | 500 ml |

#### 【产品概述】

本产品用于免疫印迹法（Western Blot）检测中，将经 PAGE 分离的蛋白质或多肽分子，快速转移到固相载体（PVDF 膜或 NC 膜）上。本产品可在 10-40 min 完成转膜，具有快速环保、兼容性好、转移效率高等特点，适用于湿转或半干转法转印蛋白样品。

#### 【产品组分】

| 组分货号      | 组分名称                                     | E174-01 |
|-----------|--|---------|
| ZE174-101 | 10×Fast Transfer Buffer for Western Blot | 500 ml  |

#### 【保存条件】

常温保存，保质期 12 个月。

#### 【使用方法】

用户需自备的试剂：无水甲醇、无水乙醇、去离子水。

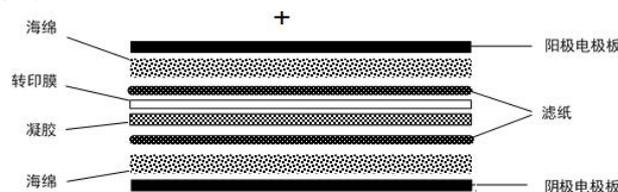
##### 湿转法

**注意：**快速转膜条件下，容易出现温度过高及电压不稳的情况。为了提高转膜效率，建议转膜前将 10×Fast Transfer Buffer for Western Blot 提前放置 4℃ 中进行预冷。

- 按常规 SDS-PAGE 操作进行蛋白电泳。
- 配制 1×Fast Transfer Buffer 工作液：

| 成分                                       | 配制 1×Fast Transfer Buffer 所需各成分的体积 |        |         |
|--|------------------------------------|--------|---------|
|  | 100 ml                             | 500 ml | 1000 ml |
| 10×Fast Transfer Buffer for Western Blot | 10 ml                              | 50 ml  | 100 ml  |
| 无水乙醇                                     | 20 ml                              | 100 ml | 200 ml  |
| 去离子水                                     | 70 ml                              | 350 ml | 700 ml  |

- 将海绵和预先裁好的与胶同样大小的滤纸完全浸入 1×Fast Transfer Buffer 工作液中，平衡 5 min，排除气泡。
- 将蛋白转印膜裁成与胶同样大小；PVDF 膜需首先用无水甲醇浸润 30 s 后，再浸入 1×Fast Transfer Buffer 工作液中平衡 5 min 左右。
- 电泳结束后小心取出聚丙烯酰胺凝胶，切去上层浓缩胶后，在超纯水中浸泡漂洗 2 min，去除胶表面的 SDS。然后浸入 1×Fast Transfer Buffer 工作液中。
- 依照转印器材厂家说明书组装转移盒、凝胶、转印膜、滤纸和海绵，转印膜置于凝胶的阳极电极一侧；用玻棒逐出气泡，关闭转移盒，然后置于转印槽中。



- 在转印槽中加入 1×Fast Transfer Buffer 工作液，完全覆盖电极板，接通电源，根据凝胶大小和厚度，以及目标蛋白特性设置转移电压和时间，通常可在恒电流 375 mA 下，转移 35-40 min。

**注意：**建议转膜前将 10×Fast Transfer Buffer for Western Blot 提前放置 4℃ 中进行预冷。转膜过程中，需要采取降温措施。



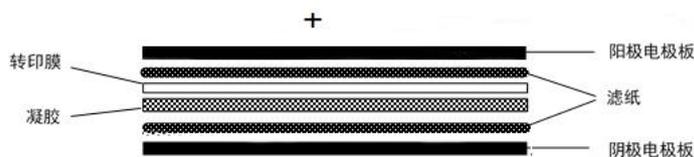
8. 断开电源，取出转印膜，继续免疫印迹后续操作。

### 半干转法

- 按常规 SDS-PAGE 操作进行蛋白电泳。
- 配制 1×Fast Transfer Buffer 工作液：

| 成分                                       | 配制 1×Fast Transfer Buffer 所需各成分的体积 |        |         |
|--|------------------------------------|--------|---------|
|  | 100 ml                             | 500 ml | 1000 ml |
| 10×Fast Transfer Buffer for Western Blot | 10 ml                              | 50 ml  | 100 ml  |
| 无水乙醇                                     | 20 ml                              | 100 ml | 200 ml  |
| 去离子水                                     | 70 ml                              | 350 ml | 700 ml  |

- 将海绵和预先裁好的与胶同样大小的滤纸浸入 1×Fast Transfer Buffer 工作液中，完全浸湿。
- 将蛋白转印膜裁成与胶同样大小；PVDF 膜需首先用无水甲醇浸润 30 s 后，再浸入 1×Fast Transfer Buffer 工作液中平衡 5 min 左右。
- 电泳结束后小心取出聚丙烯酰胺凝胶，切去上层浓缩胶后，在超纯水中浸泡漂洗 2 min，去除胶表面的 SDS。然后浸入 1×Fast Transfer Buffer 工作液中。  
**注：水中漂洗时间一定不能超过 2 min，否则分子量较大的蛋白不能完全转移。**
- 依照转印器材厂家说明书组装转移盒、凝胶、转印膜和滤纸，转印膜置于凝胶的阳极电极一侧；用玻棒逐出气泡，关闭转移盒，然后置于转印槽中。



- 半干转通常可在恒电压 25 V 下，转移 10-20 min。
- 断开电源，取出转印膜，继续免疫印迹后续操作。

### 【常见问题及解决方案】

| 问题      | 可能原因                      | 解决方案  |
|---------|---------------------------|---|
| 转膜不充分   | 湿转移槽铂金丝有盐沉积               | 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 min，建议震荡平衡   |
|         | PVDF 膜没有用甲醇预处理            | PVDF 膜要用甲醇完全润湿，在 1×快速转膜缓冲液中平衡 5 min   |
|         | 转膜时间不充分                   | 适当延长转膜时间  |
| 转膜不连续   | 凝胶和膜之间有气泡                 | 转移盒组装好后，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 3-5 min                                       |
| 转膜设备不运行 | 电泳电源不配套                   | 电泳电源要符合以下参数：300W，5-300V，0.01-3A   |
| 转膜效果不佳  | 转膜过程中温度过高或电压不稳定           | 转膜前将 10×Fast Transfer Buffer for Western Blot 提前放置 4℃ 中进行预冷。转膜过程中，需要采取降温措施。 |

### 【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下，本公司对此产品所承担的责任，仅限于此产品的价值本身。