

步骤 1：仪器检查和试剂准备



- 开机前请确认管路连接正常, 洁净无异物, 废液桶已清空。
- 试剂准备(以下均为使用标准程序进行转膜实验, 单个通道用量):
转膜缓冲液: 标准程序转膜缓冲液消耗量为 500 mL/ 通道, 需准备 1× 转膜缓冲液 600~700 mL(含凝胶、转印膜、海绵浸润用量);
清洗液: 需准备纯水 500 mL(含冷却、清洗用量)。

步骤 2：样本准备



1. 将电泳后的凝胶的上层胶切除, 然后将转印膜、凝胶(下层胶)放入装有转膜缓冲液的浸润盒中, 使转印膜和凝胶充分浸没在转膜缓冲液中, 平衡 2 min(凝胶平衡时间 < 3 min);
2. 将配套使用的海绵放入装有转膜缓冲液的容器中, 充分浸润。
注意: PVDF 膜需先使用醇(甲醇/乙醇/异丙醇)激活后再平衡, 激活后的 PVDF 膜若未平衡会降低转膜效率。

步骤 3：组装转膜“三明治”



一块胶



两块胶

1. 打开转膜盒, 将转膜盒正极平放于桌面上(带黑色把手的为正极, 不带黑色把手的为负极);
2. 在转膜盒正极网格框内, 依次平铺一片充分浸润的转印海绵、平衡后的转印膜、平衡后的凝胶, 使用沾有转膜缓冲液的转印滚筒轻轻滚动, 去除凝胶与转印膜之间的气泡, 再在凝胶上平铺另一片充分浸润的转印海绵, 盖上转膜盒负极, 扣紧锁扣。

注意:

- 确保转膜盒内侧标注“上”与“UP”正置;
- 摆放转印海绵时, 其上端与箭头齐平, 不要超过箭头;
- 确保平铺后的凝胶完全在转印膜内;
- 两块 mini 胶边缘不要重叠或接触;
- 两块 mini 胶同时转膜时, mini 胶的大分子方向均朝向转膜盒内侧;
- 尽快进行转膜“三明治”组装操作, 避免凝胶和转印膜变干。

步骤 4：开始转膜



- a. 将装配好的转膜盒插入仪器对应通道中(确保转膜缓冲液、清洗液和废液桶正确连接), 通道指示灯亮起, 软件显示“已连接”;
- b. 选择合适的转膜程序, 点击“开始”, 仪器自动填充缓冲液并开始转膜。

注意: 组装好转膜“三明治”后, 请在 5 min 内进行转膜。

步骤 5：转膜结束



1. 程序运行结束, 语音提示实验结束, 同时仪器对应通道指示灯闪烁绿光, 软件对应通道状态栏恢复“已连接”状态;
2. 取出转膜盒, 打开转膜“三明治”, 将转印膜迅速取出进行后续实验;
3. 将转膜盒正负极进行组合、扣紧锁扣, 并插入仪器对应通道中(确保清洗液充足、废液桶清空), 点击“清洗”, 仪器自动进行清洗操作。待清洗结束后, 取出转膜盒, 打开并晾干即可。

注意:

- 打开“三明治”, 将转印膜迅速取出, 浸入纯水或封闭液中, 防止干膜;
- 转膜完成后, 若 PVDF 膜出现局部或整体干燥的情况, 需重新对膜进行活化处理, 再继续后续实验。