

快速转印仪SOP

1. 上电检查

- 仪器上电后,软件能够正常启动,进入到快速转印仪软件登录页面,且页面不报故障,状态指示灯绿灯常亮。
- 使用 public 用户登录后,实验程序页面有三条预置程序,分别为: 延长、标准、快速。

2. 管路接入检查

- 分别将转膜液、清洗液、废液管路插入对应的液路接口,确保听到响声,然后将三个管路分别插入对应的试剂桶中。
- 附带 3 个试剂桶,分别用于盛放 1× 转膜液、清洗液(纯水)、废液。

3. 试剂配制

- 将雅酶 PS109 10× 浓缩转膜液稀释为 1× 后使用,具体稀释方法如下: 取 500 mL 浓缩液,加入纯水 3750 mL, 750 mL 乙醇,配制成 5 L 转膜液(15% 醇含量)。
- 每次实验结束会自动进行冷却,消耗清洗液(纯水)约 200 mL/ 通道,清洗液试剂瓶中需提前备好足量纯水。
- 实验室自配 1× 转膜液方法: 25 mM Tris, 192 mM 甘氨酸,15% 醇,对应 3.03 g/L Tris,14.40 g/L 甘氨酸,150 mL/L 无水乙醇。

注意: (1) 延长程序消耗液量约 650 mL,标准程序和快速程序消耗液量约 400 mL。

(2) 如果凝胶电泳体系是 MOPS 或 MES,建议将转膜液试剂醇含量提高至 20%。

(3) 试剂配制无需调节 pH 值。

(4) 使用分析纯的无水乙醇。

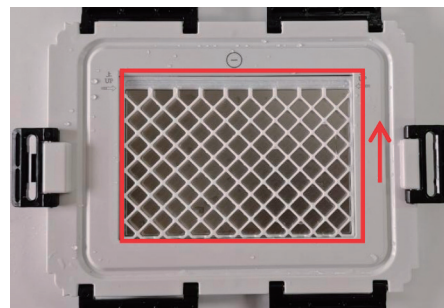
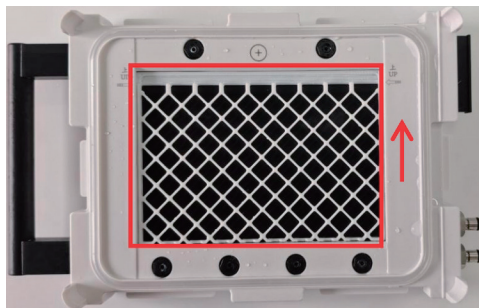
4. 胶、膜平衡

- Tris-Glycine 体系胶不需要平衡,放入 1× 转膜缓冲液中润湿即可取出放入三明治中。
- PVDF 膜需要先用醇激活至透明状,再放入 1× 转膜缓冲液中平衡 2 min。
- NC 膜久置会干燥,需要在转膜缓冲液中浸泡到膜不泛白,不然会在转膜过程中产生气泡。

注意: 如果凝胶电泳体系是 MOPS 或 MES,需要将胶(拆除胶板)放置在 1× 转膜缓冲液中平衡 2~3 min(不要超过 3 min),再放入三明治中。

5. 转膜盒检查

- 转膜盒开盖后,内部无异物,可用纯水将正负极冲洗一遍。
- 网格板如图,需将网格下凹位置靠近正 / 负极图标。



6. 转膜三明治

- 海绵放置时将海绵贴着网格板下凹边缘放置,左右不要贴边,居中放置,如图:



- 顺序: 正极 - 海绵 - 膜 - 胶 - 海绵 - 负极。
- 制作三明治前,需将两片海绵放入海绵浸润盒充分浸润。
- 两块胶放置时,需要把胶顺时针旋转 90°, 或逆时针旋转 90°, 大分子不用对着放, 顺着同一个方向或相反放都可以; 单块胶放置时, 大分子朝上朝下都可以, 胶放置如图:



- 确保胶和膜之间没有细小残胶或者膜的碎屑,建议用少量新鲜干净的转膜缓冲液冲洗一下膜再将胶盖上。
- 确保胶和膜之间没有气泡,可用滚轮或刮板将气泡排出,或用少量转膜液将气泡冲走。
- 按顺序扣紧转膜盒: 双手拇指同时分别放置在①, 其余手指紧贴下方卡扣, 两只手臂同时发力按压①, 其余手指顺势将卡扣扣紧, 随后将②,③扣紧,即完成转膜盒的锁定。



- 注意: (1) 用水冲洗电泳后的凝胶胶板, 去除残留的电泳缓冲液。
- (2) 膜要大于胶, 胶尽量放到膜的中间位置, 胶的边缘距膜的边缘空出 2 mm 左右空隙。
- (3) 海绵不建议重复使用, 重复使用会影响重复性和稳定性。

7. 不同条件推荐转膜程序

凝胶规格：1.0 mm胶								
目的蛋白	6%	7.5%/8%	10%	12%/12.5%	15%	梯度4~12%	梯度8~15%	梯度4~20%
< 20 kDa	-	-	快速	标准	标准	延长	延长	延长
20~70 kDa	-	标准	标准	标准	延长			
70~250 kDa	延长	延长	延长	延长	-			

凝胶规格：1.5 mm胶								
目的蛋白	6%	7.5%/8%	10%	12%/12.5%	15%	梯度4~12%	梯度8~15%	梯度4~20%
< 20 kDa	-	-	标准	标准	延长	延长	延长	延长
20~70 kDa	-	标准	延长	延长	延长			
70~250 kDa	延长	延长	延长	延长	-			

1. 若同一张膜上需同时转印分子量差异较大的蛋白，优先采用针对大分子蛋白的推荐条件，以确保其转印效率，小分子蛋白通常在此条件下亦可有效转印；
2. 表中“-”表示不推荐在该浓度转印相应大小的蛋白；
3. 对于超大分子量蛋白 (≥ 250 kDa)，视情况需要针对性地优化转膜条件，涉及调整转膜时间、电压以及凝胶浓度、厚度等参数，具体请与技术支持沟通。

8. 开始实验

- 将转膜盒插入对应通道，选择预置程序，对应通道状态显示“已就绪”，点击“开始”。
- 提醒用户准备好封闭液，待实验结束后快速取膜放入封闭液中。

9. 转膜结束后操作

- 打开转膜盒，将“三明治”整体移入纯水或缓冲液中浸透，揭开上层海绵，取出胶和膜，并将膜立即放入封闭液或洗膜液中浸润，防止干膜。
- PVDF 膜干膜后需先用醇激活至透明状，之后用 TBST 清洗 2~3 min，再进行封闭。

注意：海绵不建议重复使用，重复使用会影响重复性和稳定性。

10. 仪器清洁

- 清洗：清洗液桶中准备足量纯水 (350 mL/ 通道)，将转膜液管路和清洗液管路均放入清洗液桶中，将空转膜盒插入运行过实验的通道，进入实验操作页面，点击对应通道的清洗按钮，点击开始，开始后等待清洗自动结束。
- 排空：清洗结束后，请勿将转膜盒拔出，将转膜液管路及清洗液管路从清洗液中取出置于悬空状态，点击对应通道的清洗按钮，点击开始，开始后等待清洗自动结束。
- 取出转膜盒，开盖晾干，关闭仪器电源。