



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

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

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

10×BN 转膜缓冲液

产品编号	产品名称	规格
BC600P	10×BN 转膜缓冲液（粉末）	1 升

● 简介:

10×BN 转膜缓冲液 (10×Blue Native Transfer Buffer[®]) 适用于 BN 蛋白电泳后凝胶上非变性蛋白的转膜。本转膜液配制便捷，稀释后无需调节 pH 值，pH 约为 7.5-7.7。该缓冲液最终可配成 10 升即用型 1×缓冲液（根据需求补加甲醇）。

● 保存和运输:

粉末装常温保存，常温运输，两年有效；配成 10×转膜缓冲液后 4℃贮存，一年有效；加入甲醇的即用型转膜缓冲液 4℃贮存，一个月有效。

● 配制方法:

将 10×转膜缓冲液粉末全部溶解于 1 升超纯水中，彻底溶解，即配成 10×转膜缓冲液。根据下表配制成 1×即用型转膜缓冲液

	1×即用型转膜缓冲液		
	500 ml	1 L	2 L
10×转膜缓冲液	50 ml	100 ml	200 ml
无水甲醇	甲醇终浓度 0-20%		
超纯水	定容至 500 ml	定容至 1 升	定容至 2 升
	不要调节 pH		

注：转膜缓冲液中加入甲醇对蛋白有固定作用，转膜分子量较大的蛋白少加或不加甲醇，转膜分子量较小的蛋白要加至多 20%的甲醇。非变性蛋白的转膜可以不加甲醇。

● 使用方法:

1. BN 电泳介绍:

Blue Native PAGE (BN-PAGE) 是一种从生物样品（质膜，胞浆等）中分离分子量 10 kD-10 M kD 范围的蛋白质复合物的电泳技术。其原理是用温和去污剂(如 DDM, digitonin)将蛋白复合体从细胞膜中以近似天然的状态分离出来，Blue Native PAGE (BN-PAGE) 是用考马斯亮蓝 G-250 代替 SDS 与蛋白结合而使其带负电荷，根据蛋白分子量不同在 PAGE 胶中得到分离。BN-PAGE 由于考马斯亮蓝 G-250 存在，使蛋白都覆盖上负电荷，可以分离碱性蛋白 (pI>7)。BN 电泳可以选择 Blue/Clear 非变性凝胶电泳试剂盒(U 型板 3-12%预制胶，通用型) (货号: RTD6139-0312 或 RTD6139-0416)

2. 电泳后凝胶预处理（可选步骤）:

凝胶浸泡于适量 1×即用型 BN 转膜缓冲液（加终浓度 0.1% SDS）中，摇床慢摇 10 分钟。

注：凝胶浸泡在含 SDS 缓冲液中，能让蛋白带上更多的负电荷，有利于蛋白的转膜。

3. 转膜:

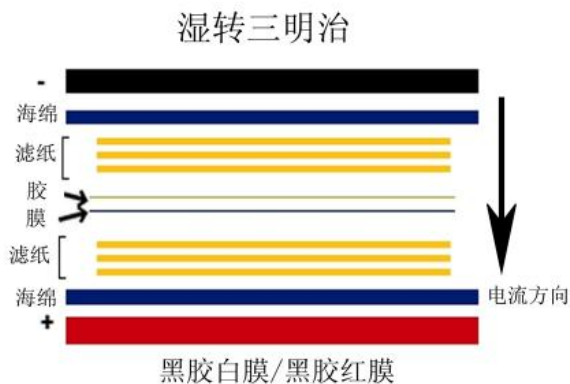
3.1 转膜方法：BN 电泳后的转膜建议用湿转法。

3.2 膜的选择：**BN 电泳转膜必须使用 PVDF 膜，不能用 NC 膜**（NC 膜会与考马斯亮蓝 G-250 不可逆结合，很难清除干净）。根据蛋白大小选择膜的孔径。一般说来，大于 20 kD 蛋白选择 0.45 μm 孔径，低于 20 kD 选择 0.22 μm 孔径。**PVDF 膜使用前要用无水甲醇润湿活化。**

3.3 三明治结构：转膜三明治结构与传统转膜相同，即根据“黑胶白膜”制作三明治，即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。蛋白转膜三明治制作：

负极（电转夹黑色面）-海绵垫-1 层 1 mm 厚度滤纸-凝胶-膜-1 层 1 mm 厚度滤纸-海绵垫-正

极（电转夹白色面）



3.4 转膜条件:

由于在非变性条件下，不同蛋白的空间结构，聚合状态，电荷数量都有不同，以下转膜条件仅供参考，客户针对自己的目的蛋白，最好经过 1-2 次预实验后，确定最佳的转膜条件。

蛋白大小	稳流	建议时间	降温措施
低于 70kD	150 mA	1 小时	不需要
70-300 kD	200 mA	1.5-2 小时	需要
高于 300 kD	200 mA	2.5-3.5 小时	需要

4. 洗膜:

PVDF 膜用无水甲醇清洗 10 分钟，彻底去除蓝色 G250。

5. 进行后续 WB 操作：封闭-一抗-二抗-检测。