



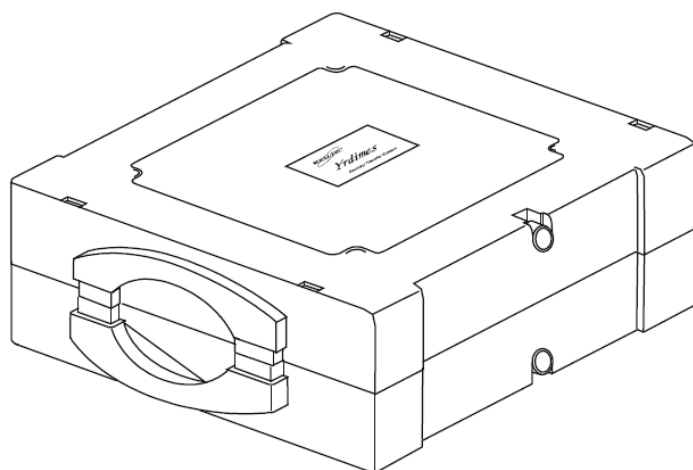
Yrdimes

半干转印系统

使用说明书

版本：1.1

项目 #02020



***本仪器仅限实验室使用**

目录

通用信息.....	3
1.1 介绍	3
1.2 安全	3
1.3 系统部件.....	5
操作指南.....	6
蛋白转印.....	6
2.1 蛋白电转印准备工作.....	6
2.2 Yrdimes 蛋白电转印法.....	7
2.3 蛋白质电转印.....	8
核酸转印.....	8
2.4 DNA 或 RNA 电转印准备工作	8
2.5 Yrdimes 的 DNA 或 RNA 电转印.....	9
2.6 DNA 或 RNA 电转印	9
保养与维护.....	10
3.1 清洗	10
3.2 警告	10
3.3 维护	10
常见故障排除.....	11
参考文献.....	12

***注意: 中文说明书仅供辅助参考使用, 详细准确说明请以英文原版说明书为准**

通用信息

1.1 介绍

Yrdimes 可进行水平半干电转印,用一打缓冲液浸润过的滤纸插入两片镀铂钛与不锈钢盘式电极间进行转印。盘式电极性能强大,即使在两极很靠近的情况下依然可发出完美均匀电场。

Yrdimes 电转印的主要优势:简易组装减少了缓冲液消耗量,电场均匀,高转印效率,省时,可进行多凝胶转印。Yrdimes 良好设计提供革新功能:可以转印核酸与蛋白,弹簧设计提供均匀压力,小巧、轻便、安全。

历史事件

年份	发明者	事件
1975	Southern (1)	DNA 从琼脂糖凝胶转印到硝酸纤维素膜上的转印技术
1979	Towbin (2)	提出电转印技术
1981	Vaessen (3)	首次用盘式电极进行电转印
1984	Kyse-Andersen (4)	提出水平半干电转印技术

1.2 安全



注意, 电击风险



注意

Yrdimes 经认证符合 CE 安全标准。

运行设备前，请仔细检查如下事项：

1. 是否有裂痕或者缺损
2. 盘式电极是否有腐蚀或刮痕
3. 电线是否烧坏
4. 门锁是否损坏

如果任何部件有上述危险，请不要使用，立即联系您当地业务代表。

当设备检查完毕，没有任何损坏或缺陷的情况下，仔细阅读整个说明书，操作前按照指示准备。

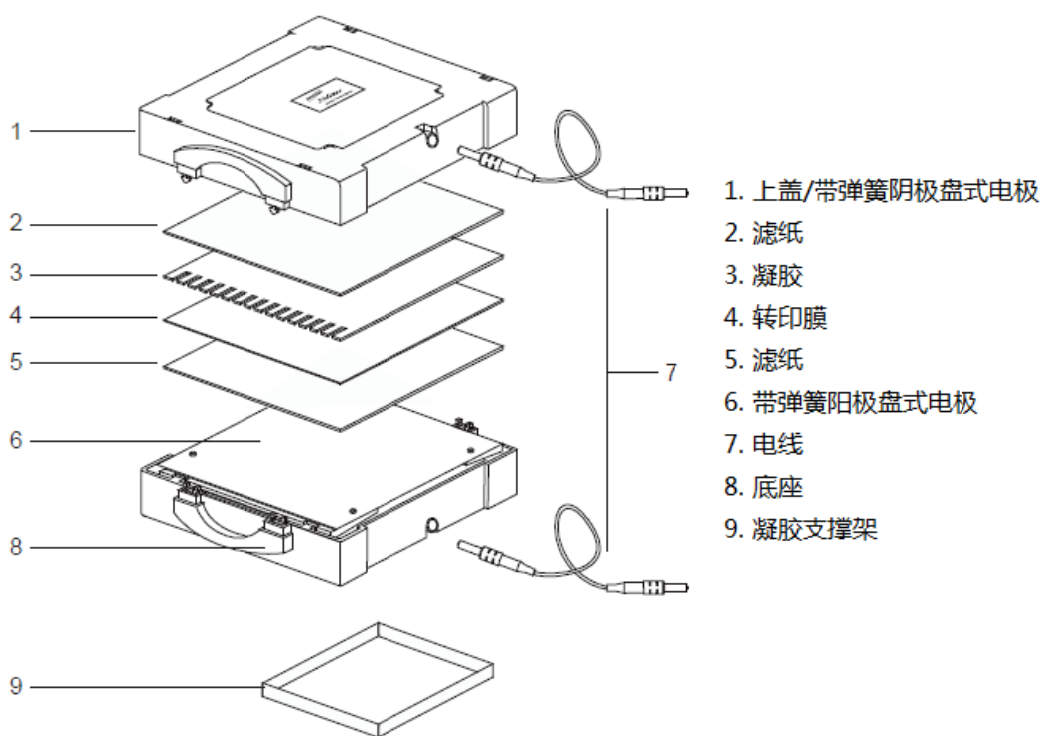
1. 除非威泰克指示授权，不要在任何情况下以任何形式改装设备
2. 使用合适电源，推荐电源型号为 ELITE 200
3. 使用箱中合适的电线，不要使用其他任何电线，否则将会损坏设备与电源，并伤害操作者
4. 不要用 25V 以上电压操作设备，这将损坏电极
5. 阳极是镀铂钛盘，阴极是不锈钢盘，不要将两极接反，不锈钢不能抵抗阳极氧化
6. 不要在 50°C 以上环境中操作
7. 在选择恒定电流条件时，电压会在操作过程中升高，因此，不建议进行超过 2 小时的长时间运行
8. 缓冲液的 pH 值选择会决定电极相对凝胶/滤纸交接处的正确方向，因此，请小心按照转印缓冲液的指示操作
9. 在 DNA 与 RNA 实验中需用凝胶保护框。否则凝胶可能会破碎。

注意：仅用于室内实验室使用。

1.3 系统部件

所有部件参照 figure 1。

项目	数量	描述
上盖/镀铂钛盘式电极 (正极)	1	盘式电极尺寸 202x205 mm
凝胶保护框	1	19x19 cm
下基座/不锈钢盘式电极 (阴极)	1	盘式电极尺寸 202x205 mm
电线	2	红与黑
保修卡	1	一年保修
说明书	1	
转换头	2	红与黑
BP-C 超纯转印纸	1	15x15 cm



操作指南

蛋白转印

全程佩戴一次性塑料手套，防止污染凝胶或转印基质，同时保护皮肤。

2.1 蛋白电转印准备工作

1. 转印缓冲液系统

除非特殊声明，所有缓冲液均选从分析级试剂中用去离子重蒸馏水制备。半干电转印中所用缓冲液，尤其是本设备，在 Bjerrum and Schafer-Nielsen (5)中有所描述，with transfer efficiency equal to the efficiency of the discontinuous buffer system of Kyse-Andersen (4) and Svoboda et al. (6)

表格 1. Bjerrum and Schafer-Nielsen 缓冲液系统 (每升)

成分	浓度
Tris	48 mM
Glycine	39 mM
SDS	1.3 mM
甲醇	20%

用去离子重蒸馏水调整体积至 1 升，pH 9.2。不要用酸或碱调节 pH 值，否则会改变缓冲液的导电性。

本缓冲液是典型的 Bjerrum and Schafer-Nielsen 系统，但是根据凝胶与被分析蛋白的性质、使用的转印基质和采取的检测方法的不同，存在其他变化。

表格 2. Towbin 缓冲液系统 (每升) (2)

成分	浓度
Tris	25 mM
Glycine	192 mM
甲醇	20%

用去离子重蒸馏水调整体积至 1 升，pH 8.3。不要用酸或碱调节 pH 值，否则会改变缓冲液的导电性。

表格 3. Dunn 缓冲液系统 (每升)(7)

成分	浓度
NaHCO ₃	10 mM
Na ₂ CO ₃ (脱水)	3 mM
甲醇	20%

用去离子重蒸馏水调整体积至 1 升, pH 9.9。不要用酸或碱调节 pH 值, 否则会改变缓冲液的导电性。

2. 电泳后, 将凝胶放置入一个盛有缓冲液的槽内, 平衡 5 分钟。
3. 将转印膜与滤纸裁切到凝胶大小, 将它们浸入转印缓冲液中。为防止存积气泡, 请慢慢浸入。转印膜预处理方法请参阅转印膜说明书。

注意 转印膜与滤纸的不均匀浸润时常影响转印效率。为达到最佳电流, 使电流仅穿过凝胶, 请勿将转印膜与滤纸裁切为大于凝胶的尺寸。

整个三明治 (滤纸, 转印膜与凝胶) 厚度应最多 1 cm。

4. 不建议将 4 块凝胶叠放在一起, 因为阴极方向转印效率会逐渐降低。最好是并排放置。
- 注意**: 如果要将几块凝胶相互叠放在一起, 需要插入透析膜避免其他胶块的被转印物质污染凝胶与转印膜。使用合适的分子量筛截, 并用缓冲液浸润。

2.2 Yrdimes 蛋白电转印法

1. 同时按下左、右把手侧弹起上盖, 将它的电极面向上放置
2. 将 3 片用缓冲液浸透过的厚 BP-C 纸置于盘式电极的下底座上, 注意中间不要产生气泡
盘式电极区域可以并排放置 4 片标准尺寸的迷你凝胶 (10 x 8 cm)
3. 将预先湿润的转印膜置于 BP-C 纸上, 清除所有气泡
4. 仔细完成此步操作。将平衡后的凝胶置于转印膜上; 确保凝胶不会超过转印膜的轮廓, 去掉所有气泡
5. 将凝胶上用另外 3 块儿缓冲液浸透过的 BP-C 纸盖住
6. 转印三明治组装好后, 一定要确保 BP-C 纸之间或凝胶间没有气泡, 否则会导致不均匀转印结果
7. 闭合装置, 首先对齐电插头方向、设备靠墙侧, 然后是门锁
8. 同时按下左右有把手侧, 将上盖与底座栓紧
9. 正确地将电线连接到设备: 红色对红色 (正极), 黑色对黑色 (负极), 然后连接到一个合适的电源

2.3 蛋白质电转印

1. 当设备正确连接到电源上之后，将电源开关打开开始转印
2. 推荐转印运行条件：
1 或 0.8 mA/cm²，运行 30 – 40 min
迷你凝胶电流极限：5 mA/cm² 全尺寸凝胶电流极限：3 mA/cm²
3. 转印结束后，关闭电源，从电源与设备上拔掉电线
4. 同时按下左、右把手侧弹起上盖，将它的电极面向上放置
5. 转印膜就准备好了

核酸转印

全程佩戴一次性塑料手套避免污染凝胶或转印膜。

2.4 DNA 或 RNA 电转印准备工作

1. 转印缓冲液系统
除非特殊说明，所有缓冲液都要从分析级试剂中获取，用去离子重蒸馏水制备。使用 0.5x TBE 缓冲液。

表格 4. 10x TBE (每升)

成分	浓度
Tris 基质	108 g
硼酸	55 g
EDTA	40 ml 0.5 M, pH 8.0

2. 电泳后，用 0.5x TBE 平衡凝胶
3. 裁切转印膜与滤纸到凝胶大小，将它们浸入转印缓冲液中。为防止产生气泡，应小心浸泡。请参阅转印膜说明书中的预处理方法。
注意：转印膜与滤纸的不均匀浸润时常影响转印效率。为达到最佳电流，使电流仅穿过凝胶，请勿将转印膜与滤纸裁切为大于凝胶的尺寸。

2.5 Yrdimes 的 DNA 或 RNA 电转印

1. 同时按下左、右把手侧弹起上盖，将它的电极面向上放置
2. 3 片被缓冲液浸透的厚 BP-C 纸放置到底座盘式电极上，排出所有气泡。
注意：凝胶厚度最厚不要超过 8 mm，否则加更多的滤纸保持三明治厚度最多到 1 cm
3. 将预先湿润的转印膜置于 BP-C 纸上，除掉所有气泡
4. 小心执行此步。将平衡过的凝胶置于转印膜上；确保凝胶不要超过转印膜边缘，排出所有气泡
5. 将凝胶用另外 3 片缓冲液浸润过的 BP-C 纸盖住
6. 转印三明治组装好后，一定要确保 BP-C 纸之间或凝胶间没有气泡，否则会导致不均匀转印结果
7. 安装凝胶支撑架
8. 闭合装置，首先对齐电插头方向、设备的靠墙侧，然后是门锁
9. 同时按下左右有把手侧，将上盖与底座栓紧
10. 正确将电线连接到设备：红色对红色（正极），黑色对黑色（负极）。然后连接到一个合适的电源

2.6 DNA 或 RNA 电转印

1. 当设备正确连接到电源上之后，将电源开关打开开始转印
2. 推荐转印运行条件：
3 mA/cm²，运行 30 – 35 min
电流极限：6 mA/cm²
3. 转印完毕后，关闭电源；从电源与设备上拔掉电源线
4. 同时按下左、右把手侧弹起上盖，将它的电极面向上放置
5. 转印膜就制备好了
注意：转印后，恰当地固定 DNA 或 RNA

保养与维护

3.1 清洗

项目	操作
设备	仅用水洗，不要用洗涤剂或其他清洗剂，之后用软布擦拭或空气吹干。
腐蚀或生锈的不锈钢盘式电极	用温和擦洗剂清洁

注意：不建议拆卸设备的任何部件

3.2 警告

1. 设备电压不要超过 25V
2. 不要刮擦盘式电极
3. 不要使用高压灭菌
4. 除非特殊情况，不要将电极反转

3.3 维护

项目	损坏	措施
电线	断掉或裂开	更换
盘式电极	刮痕	更换
弹簧	失去弹性	更换
上盖	损坏	更换
底座	损坏	更换
门锁	损坏	更换

常见故障排除

错误	原因	补救措施
蛋白质转印率低	凝胶百分比过高	降低%T 或%C
	滤纸干了	改用更厚的滤纸或增加滤纸数。用缓冲液充分浸润
	荷质比错误	将缓冲液系统的酸性或碱性增加
	转印时间不足	延长转印时间
核酸转印率低	三明治组合未完全接触	排出系统内所有气泡
	选错转印膜	选择合适的转印膜
	凝胶过热	重新制备缓冲液
蛋白质图案缺失	有气泡	排出所有气泡
	凝胶未平衡完全	延长平衡时间
	三明治组合未完全接触	排出气泡与过量的缓冲液
蛋白质条带弥漫	功率过高	降低电压 检查缓冲液成分
核酸条带弥漫	凝胶可能过热	重新制作转印缓冲液

参考文献

1. Southern, E. M. 1975. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J. Mol. Biol.*, 98, 503-7.
2. Towbin, H., Staehelin, T., and Gordon, J. 1979. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76, 4350-4354.
3. Vaessen, R.T.M.J., Kreike, J., and Groot, G.S.P. 1981. Protein transfer to nitrocellulose filters. A simple method for quantitation of single proteins in complex mixtures. *FEBS Lett.*, 124, 193-196.
4. Kyse-Andersen, J. 1984. Electroblotting of multiple gels: A simple apparatus without buffer tank for rapid transfer of proteins from polyacrylamide to nitrocellulose. *J. Biochem. Biophys. Meth*, 10, 203-209.
5. Bjerrum, O.J., and Schafer-Nielsen, C. 1986. Electrophoresis ' 86 proceedings of the fifth meeting of the international electrophoresis society. Dunn, M.J., ed.
6. Svoboda, M., Meuris, S., Robyn, C., and Christophe, J. 1985. Rapid electrotransfer of proteins from polyacrylamide gel to nitrocellulose membrane using surface-conductive glass as anode. *Anal. Biochem.*, 151, 16-23.
7. Dunn, S.D. 1986. *Anal. Biochem.*, 157, 144.
8. Sambrook, Fritsch and Maniatis. 1989. *Molecular Cloning, A laboratory Manual*. Second edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
9. *Current protocols in Molecular Biology*. 1989. Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience.